

10/030559

JG13 Rec'd PCT/PTC 03 JAN 2002

428.1013

UNITED STATES PATENT & TRADEMARK OFFICE

Examiner: Unknown Art Unit: Unknown

Re: Application of: JUNG, Kyeong-Eun, et. al.

Serial No.: To be assigned

Filed: herewith

For: **NUCLEOTIDE MONOMER CONTAINING SIX-MEMBERED AZARSUGAR AND ANTISENSE OLIGOMERS THEREOF THEREOF**

LETTER REGARDING PRIORITY

Assistant Commissioner
for Patents
Washington, D.C. 20231

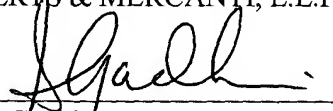
January 3, 2002

Sir:

Applicants hereby claim priority of Korean Patent Application No. 1999/26947 filed July 5, 1999; and PCT Application Serial No. PCT/KR00/00713 filed July 3, 2000.

Respectfully submitted,

ROBERTS & MERCANTI, L.L.P.

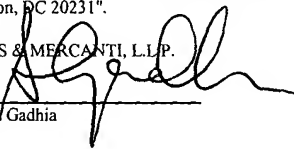

Sapna Gadhia
Registration No. 48,978

ROBERTS & MERCANTI, L.L.P.
105 Lock Street, Suite 203
Newark, New Jersey 07103
Phone: 973-621-0660
Fax: 973-621-0774

J:\wpdocs\PATENT\428 Won Int\1013\Letter re priority.wpd

"Express Mail" mailing label no. EL 696 654 825 US
Date of Deposit January 3, 2002
I hereby certify that this correspondence and/or fee is being deposited with the United States Postal Service "Express Mail Post Office to Addressee" service under 37 CFR 1.10 on the date indicated above, in an envelope addressed to: "Assistant Commissioner for Patents, Washington, DC 20231".

ROBERTS & MERCANTI, L.L.P.

By: 
Sapna Gadhia

REC'D 17 JUL 2000	
WIPO	PCT

4 KR00/713 #2
대한민국 특허청

KOREAN INDUSTRIAL
PROPERTY OFFICE

별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Industrial
Property Office.

출원번호 :
Application Number

특허출원 1999년 제 26947 호

출원년월일 :
Date of Application

1999년 07월 05일

출원인 :
Applicant(s)

등부한농화학 주식회사

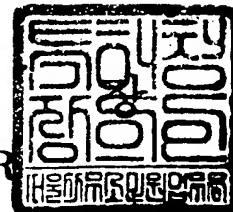
PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(A) OR (B)



2000 년 05 월 23 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0002
【제출일자】	1999.07.05
【발명의 명칭】	육환의 아자슈거를 가진 뉴클레오타이드 모노머 및 이를 이용 한 안티센스 올리고머
【발명의 영문명칭】	Nucleotide monomer containing six-membered azasugar and antisense oligomers thereof
【출원인】	
【명칭】	동부한농화학 주식회사
【출원인코드】	1-1998-000857-5
【대리인】	
【성명】	이원희
【대리인코드】	9-1998-000385-9
【포괄위임등록번호】	1999-020567-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	정경은
【성명의 영문표기】	JUNG,Kyeong-Eun
【주민등록번호】	611129-2122719
【우편번호】	305-390
【주소】	대전광역시 유성구 전민동 세종아파트 107동 1201호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	양미림
【성명의 영문표기】	YANG,Mirim
【주민등록번호】	710508-2109623
【우편번호】	305-390
【주소】	대전광역시 유성구 전민동 세종아파트 103동 1202호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이광준
【성명의 영문표기】	LEE,Kwangjun
【주민등록번호】	730516-1645924

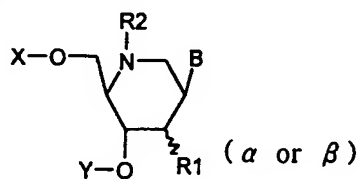
【우편번호】 305-390
【주소】 대전광역시 유성구 전민동 세종아파트 103동 204호
【국적】 KR
【발명자】
【성명의 국문표기】 김기철
【성명의 영문표기】 KIM,Kichul
【주민등록번호】 661024-1091028
【우편번호】 302-181
【주소】 대전광역시 서구 내동 220-2 롯데아파트 106동 602호
【국적】 KR
【발명자】
【성명의 국문표기】 임홍
【성명의 영문표기】 LIM,Hong
【주민등록번호】 491113-1041815
【우편번호】 137-041
【주소】 서울특별시 서초구 반포동 952 반포아파트 104동 203호
【국적】 KR
【심사청구】 청구
【핵산염기 및 아미노산 서열목록】
【서열개수】 003
【서열목록의 전자문서】 첨부
【취지】 특허법 제42조의 규정에 의한 출원, 특허법 제60조의 규정에 의한 출원심사를 청구합니다. 대리인
이원희 (인)
【수수료】
【기본출원료】 20 면 29,000 원
【가산출원료】 105 면 105,000 원
【우선권주장료】 0 건 0 원
【심사청구료】 14 항 557,000 원
【합계】 691,000 원
【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】

【요약】

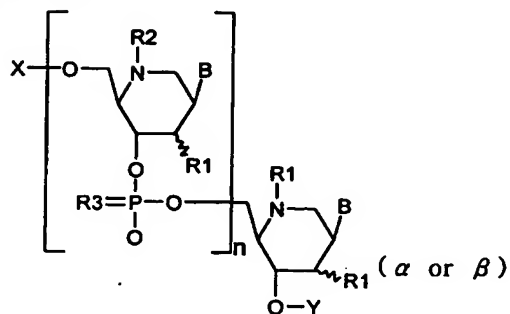
본 발명은 자연형의 뉴클레오타이드의 당인 오환의 리보오스(ribose)를 육환의 아자슈가(azasugar)로 치환한 하기 화학식 1의 구조를 갖는 뉴클레오타이드 모노머와 하기 화학식 2의 구조를 갖는 안티센스 올리고머 및 그의 제조방법에 관한 것으로, 본 발명의 올리고머는 mRNA에 대한 결합력이 높을 뿐만 아니라, 세포막 투과성이 좋고, 뉴클리아제(nuclease)에 대한 내성이 높아 안티센스 약물로서 유용하게 사용될 수 있다.

【화학식 1】



상기식에서 R^1 , R^2 , R^3 , B, X와 Y는 명세서에서 정의한 바와 같다.

【화학식 2】



상기식에서 n , R^1 , R^2 , R^3 , B, X와 Y, N은 명세서에서 정의한 바와 같다.

【명세서】

【발명의 명칭】

육환의 아자슈거를 가진 뉴클레오타이드 모노머 및 이를 이용한 안티센스 올리고머
 {Nucleotide monomer containing six-membered azasugar and antisense oligomers thereof

【발명의 상세한 설명】

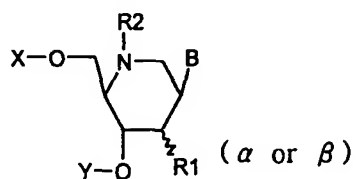
【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<1> 본 발명은 자연형의 뉴클레오타이드의 당인 오환의 리보오스를 육환의 아자슈거로 치환한 하기 화학식 1의 구조를 갖는 뉴클레오타이드 모노머와 하기 화학식 2의 구조를 갖는 안티센스 올리고머 및 그의 제조방법에 관한 것이다.

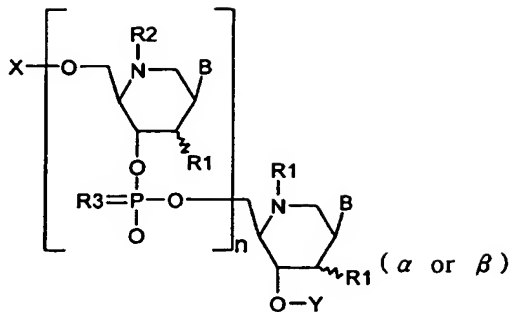
<2> 화학식 1

<3>



<4> 화학식 2

<5>



<6> 단백질은 20개 이상의 아미노산으로 구성되며 매우 복잡하고 다양한 3차 구조를 가지고 있으므로, 단백질에 선택적으로 작용하는 약물을 개발하는 데에는 어려움이 있다. 컴퓨터와 엑스레이 분석법을 이용한 단백질의 3차 구조가 규명됨에 따라 단백질 억제제의 개발이 활발히 진행되어왔으나, 아직 효과적인 단백질 억제제는 개발되지 못한 실정이다.

<7> 반면, 유전물질인 핵산을 목표로 하여 약물을 개발하는 경우에는 아데노신 (adenosine), 구아노신(guanosine), 시티딘(cytidine), 및 티미딘(thymidine) 또는 우리딘(uridine)의 4개의 뉴클레오타이드만으로 구성되는 핵산이 상보적으로 결합하는 특성을 이용함으로써, 다양한 약물을 개발할 수 있다는 장점이 있다(Uhlmann *et al.*, 'Antisense Oligonucleotides: A New Therapeutic Principles' Chem. Rev., 1990, 90, 543-584 ; Cohen *et al.*, 'The New Genetic Medicine' Scientific American, 1994, 271, 76-82).

<8> 생체내 단백질의 합성은 그들의 아미노산 서열을 코딩하는 유전자의 발현으로 이루어진다. 즉, 이중나선 구조를 가진 DNA 중 한 가닥만이 mRNA로 전사(transcription)되

고 이 mRNA가 단백질로 번역(translation)되는 것이다. 이러한 사실을 기초로 하여 일반적인 단백질을 목표로 하는 약물과는 달리 핵산을 목표로 하는 약물이 개발되었는데, mRNA의 서열과 상보적인 염기 서열을 가진 올리고뉴클레오타이드(oligonucleotides)를 포함하는 약물이 그것이다. 올리고뉴클레오타이드는 mRNA의 서열에 상보적으로 결합하여 mRNA가 단백질로 번역되는 것을 억제함으로써, 질병을 일으키는 독성 단백질의 생산을 차단 또는 감소시키는 작용기전을 갖는다. 이 때, 사용되는 올리고뉴클레오타이드의 서열은 유전정보서열(센스서열)과 반대(안티)를 이루므로, 이를 포함하는 약물을 안티센스 약물이라 하며, 이러한 기술을 안티센스 기술이라 한다.

<9> 1970년 후반에 스테펜슨과 자메닉은 합성 DNA 조각을 사용하여 바이러스의 단백질 생성을 저해할 수 있음을 밝혔으며(Stephenson et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1977, 95, 285 ; Zamecnik et al., Natl. Acad. Sci. USA, 1977, 95, 280), 또한 1980년대에는 생체시스템 자체 내에서도 안티센스 RNA가 생성되어 유전자의 발현을 조절한다는 사실이 알려졌다(Simons et al., Cell, 1983, 34, 683 ; Mizuno et al., Natl. Acad. Sci. USA, 1984, 81, 1966).

<10> 이와 같이 자연형의 올리고디옥시뉴클레오타이드(oligodeoxynucleotide)는 그 자체로도 안티센스 효과를 보이나, 이들 자연형은 생체내에서 핵산분해효소인 뉴클리아제(nuclease)에 의해 쉽게 분해되므로, 생체에 투여하였을 때 신속히 분해되어 충분한 약리효과를 기대할 수 없다는 문제점이 있다. 이에 안티센스 올리고머의 구조를 변화시켜 안정성이 증가된 안티센스 약물을 만들기 위한 연구가 활발히 진행되어 왔다.

<11> 제 1세대 안티센스 약물은 올리고뉴클레오타이드의 포스페이트(phosphate) 연결 구조를 바꾼 올리고머로, 포스포로치오에이트(phosphorothioate), 메틸포스페이트 등이 알려져 있다.

<12> 포스포로치오에이트는 포스페이트의 산소 한 개가 황으로 치환된 올리고머로서, mRNA에 대한 결합력은 자연형 DNA보다 떨어지나 뉴클레아제에 대하여 강한 내성을 보이며, 생체의외(in vitro) 또는 생체내(in vivo) 시험에서 약리활성을 가짐이 확인되었다. 이러한 제 1세대 안티센스 약물 중, 현재 그 일부는 항바이러스제, 항암제로서 임상시험 중에 있으며, 항바이러스제로서 시판중인 것도 있다(Bennett et al., 'Antisense Oligonucleotides: is the glass half full or half empty' Biochem. Pharmacol. 1998, 55, 9-19). 그러나 이들은 독성, 면역반응유발 등의 문제점을 가지고 있어(Stein et al., Current Opinion in Oncology, 1994, 6, 587-594 ; Krieg et al, Nature, 1995, 374, 549 ; O'Brien et al., Leukemia, 1994, 8, 2156), 이러한 단점을 보완할 수 있는 안티센스 약물의 개발을 위한 새로운 전략들이 대두되었는데, 올리고뉴클레오타이드의 포스페이트의 골격을 아마이드나 에테르 등으로 바꾸는 방법, 뉴클레오타이드의 염기의 구조를 변화시키는 방법, 및 리보오스(ribose)당의 구조를 변화시키는 방법에 의한 연구 등이 이에 해당된다(De Mesmaeker et al., 'Antisense Oligonucleotides' Acc. Chem. Res. 1995, 28, 366-374).

<13> 포스포로치오에이트, 메틸포스페이트 등 포스페이트의 연결 부분을 바꾼 올리고머가 제 1세대 안티센스 약물로 불리는 반면, 제 2세대 안티센스 약물은 올리고뉴클레오타이드의 당의 구조에 변화를 준 올리고머를 지칭한다. 이러한 당의 구조에 변화를 준 올

리고머에는 2' 위치에 메톡시, 메톡시에톡시(Martin et al., *Helv. Chim. Acta*, 1995, , 584) 또는 아미노알콕시기(Griffey et al., *J. Med. Chem.* 1996, 39, 5100-5109)가 도입된 올리고머, 헥소오스(hexose) 함유 올리고머(Herdewijn et al., In *Carbohydrate Modifications in Antisense Research*; ACS Symposium Series 580; Sanghvi, Y. S., Cook, P. D., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, 1994; pp 80-99), 펜토오스(pentose) 함유 올리고머(Moser et al., *Strategies and Chemical Approaches toward Oligonucleotide Therapeutics. In Perspectives in Medicinal Chemistry*; Testa, B. et al., Eds.; Verlag Helvetica Chimica Acta: Basel, 1993, pp 275-97), 4'-아미노리보오스 함유 올리고머 (Scharer et al., *J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 6623-6624), 4'-치오리보오스 함유 올리고머(Bellon et al., 4-Thio RNA: a novel class of sugar-modified B-RNA. In *Carbohydrate Modifications in Antisense Research*; ACS Symposium Series 580; Sanghvi, Y. S., Cook, P. D., Eds.; American Chemical Society: Washington, DC, 1994; pp 68-79), 및 이들의 유도체 등이 있다.

- <14> 상온(혹은 생체온도)에서 2분쇄(duplex)로 존재하는 상보서열의 mRNA와 DNA는 온도 상승에 따라 각기 1분쇄(single strand)로 떨어지며, 이의 측정은 온도변화에 따른 UV 흡광도 측정으로 이루어진다. 1분쇄의 UV 흡광도는 2분쇄의 흡광도보다 높아서 온도의 상승에 의해 1분쇄의 양이 증가하면 흡광도도 함께 증가하며, 이 변화곡선은 S자 곡선(sigmoid)을 이룬다. 이 S자 곡선에서 중간정도의 흡광도를 나타내는 때의 온도를 T_m (melting temperature) 이라고 한다. mRNA에 대한 높은 T_m 은 올리고머의 RNA에 대한 높은 친화력(결합력)을 의미하며, 이는 안티센스 분자로서 매우 중요한 요소이다. 이에

여러 연구팀에 의해 2' 위치에 다양한 치환기가 도입된 올리고머의 RNA에 대한 결합력의 성향이 측정되었다(Breslauer et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1986, 83, 3740 ; Freier et al., Nucleic Acids Res. 1997, 25, 4429-4443).

<15> 제 2세대 안티센스 약물 중 당의 2'-위치에 메톡시기 등이 치환된 염기를 지닌 올리고머의 장점은 mRNA에 대한 높은 Tm(melting temperature)으로, 올리고머의 m-RNA에 대한 높은 Tm은 2' 위치에 도입된 메톡시, 불소와 같은 전기음성기(electronegative group)가 RNA와의 친화도를 높이기 때문이다(Kawasaki et al., J. Med. Chem., 1993, 36, 831-841).

<16> 또한, 2' 위치에 메톡시와 같은 알콕시기 등이 도입된 올리고머는 자연형의 DNA에 비하여 뉴클레아제에 대한 내성이 증가한다는 장점이 있다. 이 중 2'-메톡시 치환체는 포스포로치오에이트와 키메릭 올리고머를 구성하여 제 1세대 안티센스 올리고머에 비해 독성이 감소되었으며(Lesnik et al., Biochemistry, 1993, 32, 7832 ; Milligan et al., J. Med. Chem. 1993, 36, 1923), 1997년에 임상시험을 시작하였다(Agrawal et al., Curr. Opin. Chem. Biol., 1998, 2, 519).

<17> 한편, 올리고뉴클레오타이드는 안티센스 기술이외에 유전자 크로닝의 하이브리디제이션, 유전자 결합 진단시약 및 중합효소 연쇄반응(PCR)의 시발체(primer) 등 여러 분야에서 이용될 수 있으며(Englisch et al., Ang. Chem. Int. Ed.

1991, 30, 613-629), 단백질의 2차 구조 및 단백질의 구조와 활성의 상관관계를 연구하는 데에도 유용하게 이용될 수 있다(Verma et al., 'Modified Oligonucleotides', Ann. Rev. Biochem., 1998, 67, 99-14).

<18> 이에 본 발명자들은 mRNA에 대한 결합력이 높고 뉴클리아제에 대한 내성이 높아 보다 안정적인 새로운 안티센스 약물을 개발하고자 연구한 결과, 오후환의 리보오스 대신 오후환의 아자슈가를 당의 기본체로 이용하여 일정한 치환기를 붙인 올리고머가 높은 결합력과 안정성을 보이는 것을 확인함으로써 본 발명을 완성하였다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

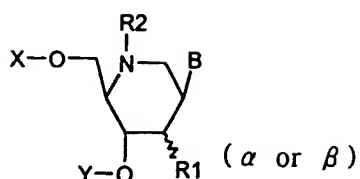
<19> 본 발명의 목적은 자연의 뉴클레오타이드의 당인 오후환의 리보오스를 오후환의 아자슈가(azasugar)로 치환하여 mRNA에 대한 결합력이 높고 뉴클리아제에 대한 내성이 강한 뉴클레오타이드 모노머 및 이를 올리고머의 일부분 혹은 전 부분에 도입하여 제조한 안티센스 올리고머를 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<20> 본 발명은 자연형의 뉴클레오타이드의 당인 오후환의 리보오스(ribose)를 오후환의 아자슈가(azasugar)로 치환한 하기 화학식 1의 구조를 갖는 뉴클레오타이드 모노머 및 그 제조방법을 제공한다.

<21> 화학식 1

<22>



<23> 상기 화학식 1에서

<24> (1) B는 보호기를 갖거나 갖지 않은 자연 뉴클레오베이스 또는 변형된 뉴클레오베이스이고,

<25> (2) R¹은 수소, α- 또는 β-하이드록시, α- 또는 β-메톡시, α- 또는 β-에톡시 등 α- 또는 β-저분자 알콕시 (lower alkoxy), α- 또는 β-메톡시에톡시, α- 또는 β-플로로 등 α- 또는 β-할로젠, α- 또는 β-아미노메톡시, α- 또는 β-아미노에톡시 등 α- 또는 β-아미노알콕시, α- 또는 β-다이메틸아미노옥시에톡시 (dimethyl amino oxyethyloxy) 등 α- 또는 β-다이메틸아미노-옥시알콕시, α- 또는 β-O-아실이며,

<26> (3) R²는 수소, 벤질, 메틸벤질, 에틸벤질, 디페닐메틸, 할로디페닐메틸 등 아라알킬 (aralkyl), 니트로벤질, 플루오로벤질 등의 할로아라알킬, 사이아노벤질, 메톡시벤질, 에톡시벤질 등 알콕시벤질, 메틸, 에틸, 프로필, 3차부틸 등의 저분자알킬 (lower alkyl), 페닐, 할로페닐 등의 치환기가 있거나 없는 아릴 (aryl), 헤테로아릴 (heteroaryl), 헤테로아릴알킬 (heteroarylalkyl), 나프타릴, 플루오레닐 (Fmoc) 이며,

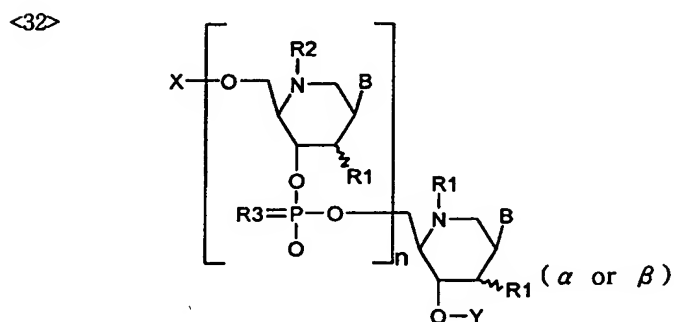
<27> (4) X는 수소 또는 하이드록실 보호기이며,

<28> (5) Y는 수소, 포스페이트, 활성화된 포스페이트, 활성화된 포스파이트(phosphite) 또는 고체지지물이다.

<29> 특히, R¹은 β -메톡시, β -에톡시이고, R²는 디페닐메틸인 것이 바람직하다.

<30> 또한, 본 발명은 상기 뉴클레오타이드 모노머를 올리고뉴클레오타이드의 일부분 또는 전 부분에 도입하여 제조하는 하기 화학식 2의 구조를 갖는 안티센스 올리고머 및 그 제조방법을 제공한다.

<31> 화학식 2



<33> 상기 화학식 2에서

<34> n 은 1~30이며,

<35> 1) B는 보호기를 갖거나 갖지 않은 자연 뉴클레오베이스 또는 변형된 뉴클레오베이스이고,

<36> 2) R¹은 수소, α - 또는 β -하이드록시, α - 또는 β -메톡시, α - 또는 β -에톡시 등 α - 또는 β -저분자 알콕시(lower alkoxy), α - 또는 β -메톡시에톡시, α - 또는 β -프로로 등 α - 또는 β -할로젠, α - 또는 β -아미노메톡시, α - 또는 β -아미노에톡시 등 α - 또는 β -아미노알콕시, α - 또는 β -다이메틸아미노옥시에톡시(dimethylamino-oxyethyloxy) 등 α - 또는 β -다이메틸아미노-옥시알콕시, α - 또는 β -O-아실이며,

- <37> 3) R²는 수소, 벤질, 메틸벤질, 에틸벤질, 디페닐메틸 등 아라알킬 (aralkyl), 니트로벤질, 플루오로벤질 등의 할로아라알킬, 사이아노벤질, 메톡시벤질, 에톡시벤질 등 알콕시벤질, 메틸, 에틸, 프로필, 3차부틸 등의 저분자알킬 (lower alkyl), 페닐, 할로페닐 등의 치환기가 있거나 없는 아릴(aryl), 헤테로아릴(heteroaryl), 헤테로아릴알킬(heteroarylalkyl), 나프타릴, 할로다이페닐메틸, 플루오레닐(Fmoc)이며,
- <38> 4) R³는 산소 혹은 황이며,
- <39> 5) X는 수소 혹은 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트기, 혹은 올리고뉴클레오타이드이며,
- <40> 6) Y는 수소, 포스페이트, 활성화된 포스페이트, 활성화된 포스파이트, 혹은 고체지지물, 컨쥬게이트기, 올리고뉴클레오타이드이다.
- <41> 특히, R¹은 β -메톡시, β -에톡시이고, R²는 디페닐메틸인 것이 바람직하다.
- <42> 상기 화학식 2에서 n은 위와 아래의 뉴클레오타이드를 포함하여 1~30이며,
- <43> 바람직하게는 6~21이다. 본 발명의 모노머는 올리고머의 어떤 위치에도 존재할 수 있으나, 올리고뉴클레오타이드에서 연이어 존재하는 것보다 3개 염기 이상의 간격을 두고 있는 것이 결합력을 높이는데 바람직하다.
- <44> 또한, 본 발명은 상기의 뉴클레오타이드 모노머, 안티센스 올리고머, 또는 키메라릭 올리고머를 유효성분으로 하는 단백질 생산 억제제 또는 차단제용 약학적 조성물을 제공한다.
- <45> 본 발명은 또한 상기의 뉴클레오타이드 모노머, 안티센스 올리고머, 또는 키메라릭 올리고머를 유효성분으로 하는 바이러스나 박테리아로 인한 감염질환, 암, 또는 면역질

환 치료제용 약학적 조성물을 제공한다.

<46> 이하, 본 발명을 상세히 설명한다.

<47> 본 발명에서 '저분자알킬(lower molecular alkyl)'이라 함은 탄소 1~4개를 함유한 알킬기로서, 예를 들면 메틸, 에틸, 프로필, 이소프로필 부틸 등이다. '저분자알콕시(lower molecular alkoxy)'라 함은 탄소 1~4개를 함유한 알콕시기로서, 예를 들면 메톡시, 에톡시, 프로폭시, 부톡시, 이소프로폭시 등이며, 바람직하게는 메톡시, 에톡시이다.

<48> 'O-아실'이라 함은 O-아세틸, O-에틸카르보닐, O-프로필카르보닐 등이며, '아릴(aryl)' 이라 함은 페닐, 파라나이트로페닐, 파라브로모페닐과 같이 치환기가 있거나 없는 방향족 탄화족 탄화수소(aromatic hydrocarbon)을 칭하며, '아라알킬(aralkyl)'이라 함은 아릴기를 가진 알킬로서 예를 들면 벤질, 에틸페닐, 디페닐메틸 등이며, 바람직하게는 디페닐메틸이다.

<49> '헤테로아릴(heteroaryl)'이라 함은 최소 1개 이상의 황, 질소 등의 헤테로원자(heteroatom)를 가진 5환 혹은 6환기를 칭하며 예를 들면 4-피리딜, 3-티오펜 등이다. 헤테로아릴알킬(heteroaryl alkyl)이라 함은 4-피리딜메틸 등의 최소 1개 이상의 황, 질소 등의 헤테로원자를 가진 5환 혹은 6환기를 가진 알킬을 칭한다.

<50> '하이드록실 보호기'라 함은 일반적으로 알려진 하이드록실기 보호기를 말하며, 예를 들면 디메톡시트리틸(4, 4'-dimethoxyltrityl)기, 저분자알카놀(lower molecular alkanol), TMS 에테르(trimethylsilyl ether), TBDMS 에테르(tert-butyldimethyl silyl

ether) 등을 말하며 바람직하기는 디메톡시트리틸 (4, 4'-dimethoxyltrityl)기이다.

<51> '뉴클레오베이스'는 자연 뉴클레오베이스 또는 변형된 뉴클레오베이스를 포함한 어떤 조합일 수 있다. 바람직하게는 자연 뉴클레오베이스인 아데닌, 시토신, 구아닌, 티민 및 우라실, 또는 보호기를 가진 뉴클레오베이스인 N-벤조일아데닌, N-벤조일시토신 및 N-이소부티릴구아닌이다. 일반적으로 사용될 수 있는 변형된 뉴클레오베이스로는 5-(1-프로피닐)우라실(5-(1-propynyl) uracil), 5-(1-프로피닐)시토신 (5-(1-propynyl)cytosine), 이노신(inosine), 5-메틸시토신(5-methylcytosine), 2,6-다이아미노퓨린 (2,6-diaminopurine) 등이 있다.

<52> 본 발명에서 '올리고뉴클레오타이드'라 함은 1~30개의 자연 올리고뉴클레오타이드 또는 이의 포스포로치오에이트 유도체를 말한다. 고체지지물로는 콘트롤드 포어 그레이스 (controlled pore glass, CPG)(in Oligonucleotide synthesis, a practical approach, M. J. Gait ed., Oxford:IRS press, 1984), 옥사릴-콘트롤드 포어 그레이스(oxaryl controlled pore glass)(Alul et al., Nucleic Acids Res. 1991, 19, 1527), 아미노폴리에틸렌글라이콜 (aminopolyethyleneglycol) 유도체의 지지물인 텐타겔 지지물(TentaGel support)(Wright et al., Tetrahedron Lett. 1993, 34, 3373) 및 폴리스티렌/다이비닐벤젠(polystyrene /divinylbenzene)의 공중합체인 포로스(Poros) 등이 있으며, 콘트롤드 포어 그레이스(CPG)가 가장 바람직하다.

<53> 본 발명에서 '컨쥬게이트기'라 함은 1차 또는 2차 하이드록실기에 공유결합을

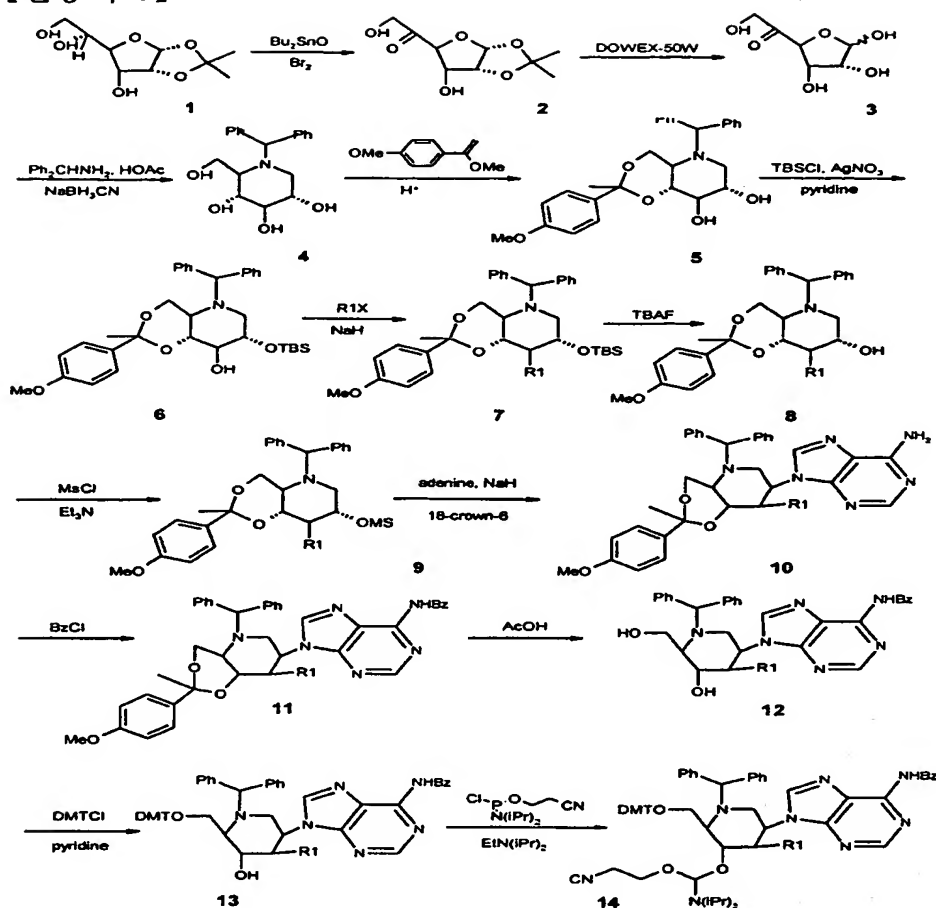
통해 부착된 기를 말하며, 올리고머의 흡수를 증가시키는 효과가 있다. 예를 들면, 콜레스테롤(cholesterol), 폴리라이신(polylysine), 포스포리피드(phospholipids), 바이오틴(biotin), 폴리에틸렌글라이콜(polyethylene glycol), 페난트롤린(phenanthroline), 페나진(phenazine), 페난트리딘(phenanthridine), 안트라퀴논(anthraquinone), 아크리딘(acridine), 플로레사인(fluorescein), 로다민(rhodamine), 쿠오마린(coumarine), 다이(dyes) 등이 있다.

<54> 본 발명의 육환의 아자슈가를 갖는 뉴클레오타이드 모노머를 제조하는 방법은 하기 반응식 1~5에 도시된 바와 같다.

<55> 반응식 1은 기본적인 육환 아자슈거 제조한 후 아데닌 핵염기를 당에 부착하여 올리고머 제조에 필요한 유도체를 만드는 방법에 관한 것이고, 반응식 2는 아데닌 이외의 핵염기인 티민, 시토신, 구아닌의 축합법에 관한 것이며, 반응식 3은 아자슈거의 질소에 각종 기를 부착하는 방법에 관한 것이다. 반응식 4는 아자슈거의 C-4위치의 하이드록시기를 환원하여 제거하는 방법에 관한 것이고, 반응식 5는 동 위치의 하이드록시기의 입체화학을 바꾸는 합성경로에 관한 것이다. 반응식 1~5에 따른 합성경로를 통해, 실시예의 모든 화합물을 포함한 화학식 1의 모노머를 합성할 수 있다.

<56> 이하, 반응식 1~5를 구체적으로 설명한다.

<57> 【반응식 1】



<58> 상기식에서 R^1 은 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

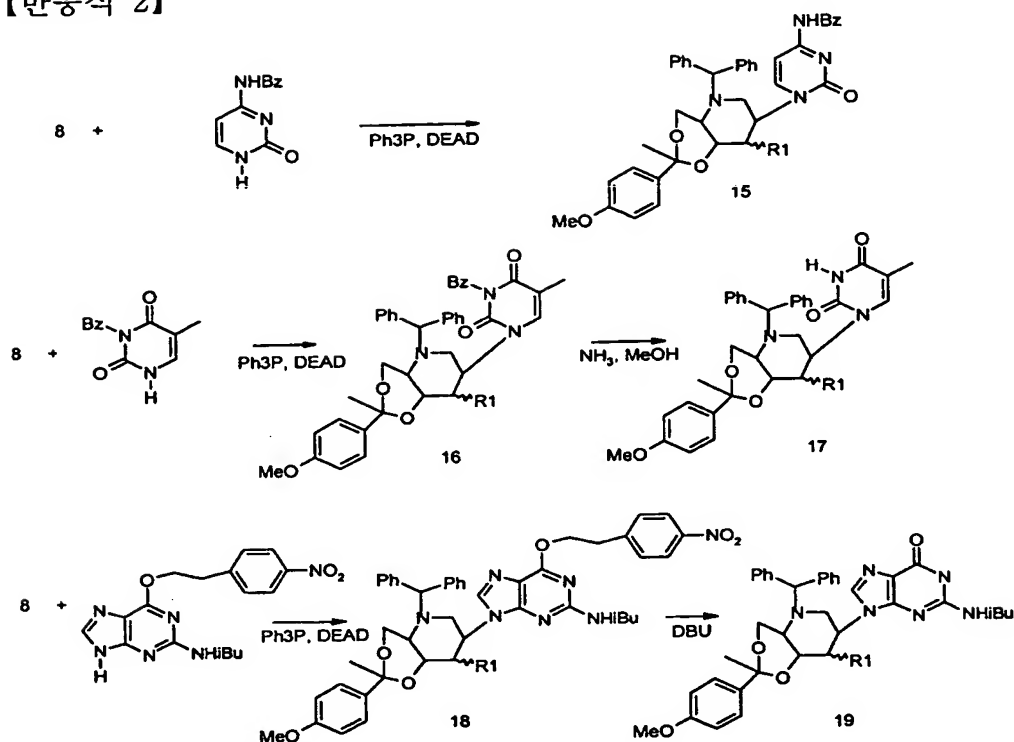
<59> 반응식 1은 육환의 아자슈거의 합성법에 관한 것이다. 시판되는 글루코즈 유도체로부터 기존에 알려진 방법에 의해 아자슈거를 기본골격으로 하는 디옥시노지리마이신 (deoxynohirimycin) 유도체(반응식 1의 화합물 4)를 합성한다(Baxter et al., J. Org. Chem., 1994, 59, 3175-3185). 이 후 합성 과정에서 생성된 모든 중간체 및 최종화합물은 신구조의 화합물이다.

<60> 출발물질로 보호기를 가진 글루코즈 1을 사용하여 다이부틸틴옥사이드(Bu_2SnO)와 브로

민(Br_2)으로 산화시켜 케톤 화합물 2를 얻고, 이를 산성의 수지를 사용하여 보호기가 제거된 3을 얻는다. 여기에 다이페닐메틸아민(diphenylmethylaniline)을 가해 보호하는 동시에 고리화 시켜 육환의 아자슈가 4를 얻는다. 당의 6위치의 1차 알콜기와 5위치의 2차 알콜기를 α, ρ -다이메톡시스티렌(α, ρ -dimethoxystyrene)으로 보호하여 5를 얻는다. 이 때, 다이올(diol)의 보호를 위하여 α, ρ -다이메톡시스티렌 이외에 여러 다양한 시약이 사용될 수는 있으나, 대부분 반응이 진행되지 않거나 저수율을 가져온다. 이 스티렌 보호기는 1개의 키랄 센터(chiral center)를 갖고 있어 화합물 5는 2개의 다이아스테레오머(diastereomer)로 얻어진다. 그러나, 이후의 보호기의 분리과정에서 다시 하나의 화합물이 되므로 다이올 보호기가 있는 화합물의 반응들에서는 이성체의 분리가 요구되지 않는다. 화합물 5에 3차 부틸다이메틸실릴클로라이드(tert-butyldimethylsilylchloride, TBSCl)와 질산은(AgNO_3), 및 피리딘을 반응하여 주위가 덜 복잡한 C-3 위치의 2차 알콜만을 선택적으로 TBS(tert-butyldimethylsilyl)로 보호한 화합물 6을 합성한다. 여기에 각종 알킬할라이드(alkyl halide)와 소듐하이드라이드(NaH)를 사용하여 알킬레이션하여 7을 얻고, 테트라부틸암모늄플로라이드(tetrabutylammonium fluoride, TBAF)로 C-3위치의 TBS 보호기를 제거하여 8을 제조한다. 8의 알콜기를 미줄레이션(methanesulfonylation)하여 9를 얻은 다음, 소듐하이드라이드, 18-크라운-6를 이용한 아데닌과의 축합반응을 통해 뉴클레오사이드 10을 제조한다. 아데닌 염기의 아민기를 모노벤조일에이션(monobenzylation)하여 11을 제조하고, 이를 80 % 초산으로 처리하여 6위치와 5위치의 보호기를 분리하여 12를 제조한다. 4,4'-다이메톡시트리틸클로라이드(4,4'-dimethoxytrityl chloride)를 12에 처리하여 13을 얻고, 이를 2-사이아노에틸다이이소프로필클로로포스포아미다이트($\text{ClP}(\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN})\text{N}(\text{iPr})_2$)과 다이이소프로필에틸

아민($\text{EtN}(\text{iPr})_2$)으로 처리하여 포스포아미다이트(phosphoramidite) 화합물 14를 제조한다.

<61> 【반응식 2】



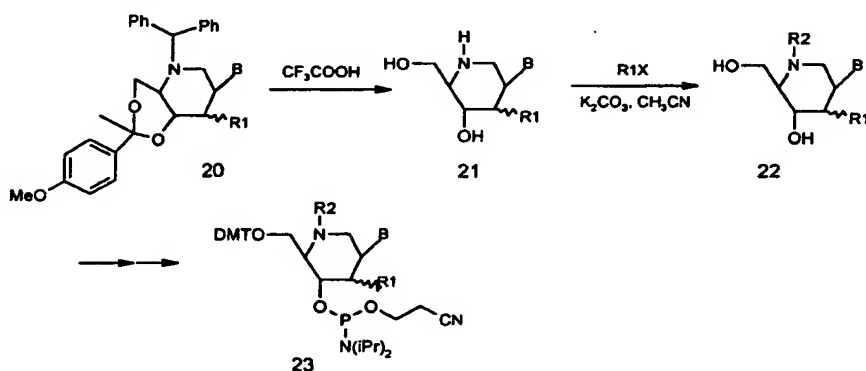
<62> 상기식에서 R¹은 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

<63> 반응식 2는 아데닌 이외의 뉴클레오베이스(시토신, 티민, 구아닌)를 아자슈거에 축합할 경우의 합성 경로를 나타낸 것이다. 반응식 1의 방법도 가능하나 반응 수율이 낮을 뿐만 아니라, 이성체도 생성되므로, 시토신, 티민, 구아닌 모노머 제조시에는 반응식 2에 따른 미즈노부(Misunobu) 반응법을 사용하는 것이 바람직하다.

<64> 시토신의 도입은 반응식 1에서 얻은 알콜 화합물

8과 N-벤조일시토신을 사용하며, 티민의 도입은 N-벤조일티민을, 구아닌의 도입은 N²-이소부티릴-0⁶[2-(p-나이트로페닐)에틸]구아닌(N²-isobutyryl-0⁶[2-(p-nitrophenyl)ethyl]guanine)을 사용하여 트리페닐포스핀(triphenylphosphine)과 DEAD(diethyl azodicarboxylate)와 함께 THF(tetrahydrofuran)의 용매하에서 수행된다. 벤조일티미딘 유도체 16은 암모니아 기체를 이용하여 벤조일 보호기를 제거함으로써 티미딘 유도체로 변화시키며, 구아노신 유도체 18의 0⁶의 보호기를 DBU (1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene)로 제거하여 19를 합성한다. 화합물 15, 17, 19는 반응식 1의 과정 또는 후술할 반응식 3의 과정을 거쳐 올리고머로 합성될 수 있는 모노머로 제조될 수 있다.

<65> 【반응식 3】

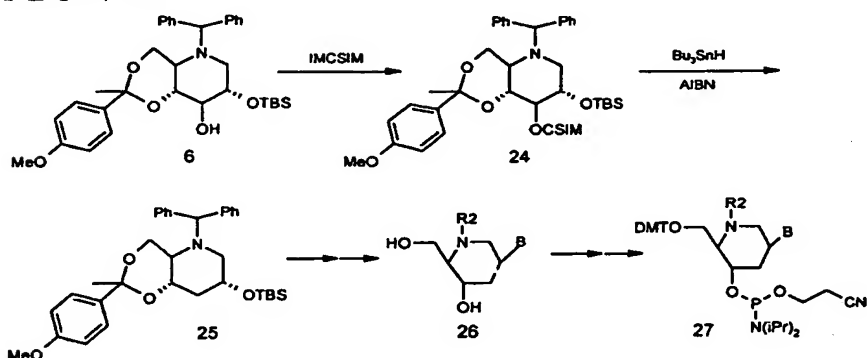


<66> 상기식에서 R^1 , R^2 , B는 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

<67> 반응식 3은 상기 반응식 1과 2에서 얻어진 뉴클레오사이드 유도체들의 6환의 슈거 질소에 여러 가지 다양한 R^2 기를 도입하는 제조방법에 관한 것이다.

<68> 뉴클레오사이드 유도체 20은 트리플루오로아세트산 (CF_3COOH) 처리로 화합물 21로 되고 여기에 알킬할라이드를 포타슘카보네이트 (potassium carbonate)나 트라이에틸아민 또는 디메틸아미노피리딘 (dimethylaminopyridine, DMAP)와 함께 반응시키면 아자슈거의 질소위치에 알킬화가 일어나 화합물 22가 합성된다. 이 후 반응식 1에 따른 과정을 거쳐 화합물 23이 합성된다.

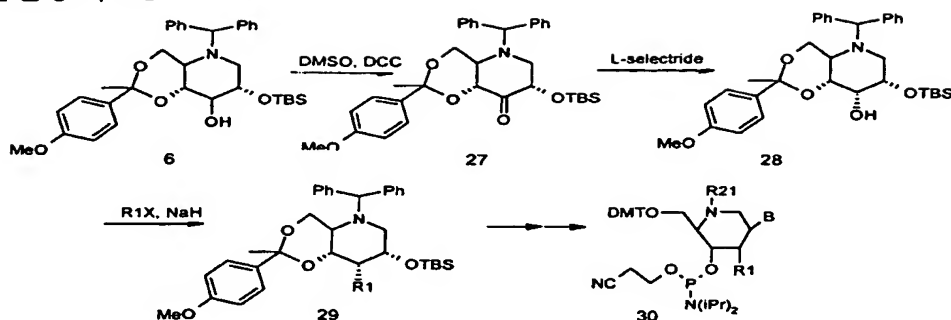
<69> 【반응식 4】



<70> 상기식에서 R^2 , B는 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

<71> 반응식 4는 아자슈거 C-4위치의 알콜기를 환원 제거하는 제법에 관한 것이다. 아자슈거 6에 치오카본다이이미다졸(thiocarbonyldiimidazole)을 반응하여 24를 제조하고, 이를 트라이부틸틴하이드라이드(nBu_3SnH)로 환원 제거하여 슈거유도체 25를 합성한다. 이 후 반응식 1, 2, 또는 3의 과정을 거쳐 화합물 26, 그리고 27을 합성한다.

<72> 【반응식 5】



<73> 상기 식에서 R¹, R², B는 화학식 1에서 정의한 바와 같다.

<74> 반응식 5는 아자슈거의 4위치의 탄소에 알콜기의 입체화학을 변화시키는 제법으로, 스원(Swern) 산화법에 의해 6으로부터 27을 얻고, 이로부터 L-셀렉트라이드 (L-selectride)와의 환원반응을 통해 반대위치의 알콜기를 가진 29를 얻는다. 이를 다시 알킬레이션하여 29를 얻고, 전술한 과정에 의해 포스포아미다이트인 30을 얻는다.

<75> 또한, 본 발명에서는 자연의 뉴클레오타이드의 당인 오환의 리보오스 대신에 육환의 아자슈가를 가지는 뉴클레오타이드 모노머를 올리고뉴클레오타이드의 일부분 또는 전 부분에 도입하여 제조한 안티센스 올리고머의 제조방법을 제공한다.

<76> 본 발명의 올리고머는 고체상 또는 액체상에서 제조될 수 있으나 고체상의 방법이 바람직하다. 고체상에서의 올리고뉴클레오타이드의 구체적인 합성 방법은 Oligonucleotide Synthesis, A Practical Approach, Gait(ed.), IRL Press, Washington D. C. (1984), Caruthers and etal., U.S. Pat. No. 4,458,066 및 4,500,707 등에 기재되어 있다.

<77> 본 발명의 뉴클레오타이드 모노머로부터 합성기의 축합반응을 통해 올리고머가 제

조되기 위해서는, 뉴클레오타이드 당에 연결된 한 개의 1차 알콜기는 다이메톡시트리틸기로 치환되고, 한 개의 2차 알콜기는 포스포아미다이트기로 치환되어 야 하며, 또한 핵염기도 티민을 제외하고는 적절한 보호기로 보호되어야 한다.

<78> 화학식 1 구조의 모노머를 올리고뉴클레오타이드의 3'-위치에 도입할 경우 고체지지물에 이 유도체를 부착하여야 한다. 상업적으로 구매할 수 있는 아미노기를 가진 콘트롤드포어 글래스(CPG)를 이용하여 모노머를 헤미석시네이트 (hemisuccinate)로 만들어 메시틸렌-2-설폰일 클로라이드/1-메틸-1H-이미다졸 (mesitylene-2-sulfonyl chloride/1-methyl-1H-imidazole) 하에서 축합반응시켜 완성한다.

<79> 화학식 1 구조의 모노머를 올리고뉴클레오타이드의 3'-끝 위치 외의 위치에 도입할 경우 DNA 합성기를 사용하여 주로 표준 포스포아미다이트 제법을 이용하여 이루어진다(예를 들면 ABI 392 등). 일반적으로 화학식 1의 모노머의 농도와 고체 수지와의 반응시기는 DNA 합성기의 일반적인 포스포아미다이트 시약과 동일하나, 2' 위치에 수소이외의 기가 있는 경우는 화학식 1의 모노머 축합반응 시간을 일반적인 60초에서 600초로 연장시키는 것이 바람직하다.

<80> 일단 목적하는 올리고머가 만들어지면 이는 고체 지지물로부터 분리되어야 하며 보호기 또한 제거되어야 한다. 이 두 과정은 동시에 행해질 수도 있고 따로 이루어질 수도 있다. 일반적으로 고체지지물은 암모니아수를 상온 처리하여 완성되고 보호기의 분리는 열을 가한 상태에서(일반적으로 55도에서 17시간) 암모니아수를 사용하여 완성된다. 올리고머의 5'-하이드록실기의 보호기는 다이메톡시트리틸기로서, 이의 분리는 합성의 마지막 단계에서 이루어지는데, 이는 DNA 합성기에서 내장된 프로그램을 이용하거나, 80 % 초산, 다이클로로초산(dichloroacetic acid), 트라이클로로초산(trichloroacetic acid)

을 사용할 수 있다.

<81> 모노머의 2'-위치에 알콜기가 있는 경우에는 아이소부티릴기로 보호된 상태에서 DNA 합성기를 사용하여 올리고머를 제조하고, 그 후 일반적인 DNA 합성 제조 과정에서 암모니아에 의해 분리된다. 모노머의 아자슈거 질소위치에 수소가 있는 경우는 플루오레닐기(F-moc)기로 보호되는데, 이 역시 올리고머의 합성 후 일반적인 보호기 분리과정을 통해 같이 분리된다.

<82> 본 발명에서는 모노머 및 안티센스 올리고머의 제조에 있어서, 육환의 아자슈거(피페리딘골격, piperidine)의 3-탄소위치에 핵염기(nucleobase)를 부착함으로써 제조과정을 간편하게 하였다. 즉, 아미날(aminal) 위치에 염기를 부착할 경우에는 주로 알파, 베타 위치 모두에 핵염기가 도입이 되어 이성체의 분리가 요구되는데, 본 발명에서는 아미날 위치가 아닌 탄소위치에 염기를 도입함으로써 원하는 베타위치에만 염기가 도입된 뉴클레오타이드를 얻을 수 있다. 또한, 질소 위치에 여러 기(group)를 도입함에 있어서, 그 도입이 용이한 아자슈가를 이용함으로써 강한 염기성 시약을 사용하는 번거로움을 없앴으며, 그 생성물인 질소 위치에 각종 기가 도입된 올리고머들은 RNA에 대한 높은 T_m 을 갖는 것으로 보아 mRNA에 대한 친화력이 높은 효과적인 안티센스 약물로 이용될 수 있다.

<83> 본 발명에 있어서, 리보오스 대신 육환의 아자슈거를 사용하고 이에 소수성기를 부착시킴으로써, 세포막 투과성의 개선을 가져올 수 있다. 이러한 카르보사이클릭 뉴클레오타이드를 가진 올리고머는 효소에 대한 내성이 높아 안정한 것으로 알려져 있으며, 실제 본 발명의 올리고머는 뉴클레아제에 대한 내성도 또한 자연 DNA에 비해 많이 개선되

었다. 또한, 본 발명의 안티센스 올리고머는 포스페이트 연결부위를 일부 혹은 전부 포스포로치오에이트로 바꿈으로 결합력 증가 및 효소에 대한 안정성을 동시에 확보할 수 있다.

<84> 한편, 본 발명의 뉴클레오타이드 모노머 및 안티센스 올리고머는 중앙에 포스포다이에스터(phosphodiester) 또는 포스포로치오에이트(phosphothioate) 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 키메릭 올리고머의 형태로 제조될 수 있다.

<85> 상기한 바와 같이 본 발명은 자연의 뉴클레오타이드의 당인 오후환의 리보오스 대신에 육환의 아자슈가를 가지는 뉴클레오타이드 모노머 및 이를 올리고머의 일부분 혹은 전 부분에 도입한 새로운 올리고머를 제공한다. 이러한 변형된 뉴클레오타이드는 일반적으로 안티센스 약물의 목표인 RNA에 자연형의 DNA보다 강하게 결합할 뿐만 아니라, 분해효소인 뉴클레아제에 대한 내성을 가지며, 또한 아자슈거의 질소위치에 소수성기를 용이하게 부착함으로써 세포막 투과성도 개선시킬 수 있다.

<86> 본 발명의 올리고머는 안티센스 올리고뉴클레오타이드가 관여하는 어떤 응용에도 유용하며 특히 mRNA에 강한 결합을 보이므로, 안티센스 약물로 우수한 특성을 지니고 있다.

<87> 안티센스 치료제의 개발에 있어서, 질병의 원인이 되는 단백질이 알려지고 그 단백질 생산에 직접 또는 간접적으로 작용하는 유전자가 밝혀진 경우에는 그 mRNA의 개시 코돈(initiator codon) 등의 중요한 부분(4~30개 염기부분)에 선택적으로 작용하도록 더

자일할 수 있다(Akhtar et al, Nature Genetics, 1993, 4, 215). 이 때, mRNA에 대한 공격부분은 여러 방법에 의해 결정될 수 있으며(Mishra et al, C. R. Acad. Sci. III, 1994, 317, 977 ; Milner et al, Nat. Biotechnol., 1997, 15, 537), 주로 개시코돈이나 전사 시작 부위(transcription start site)를 공격부분으로 하는 것이 우수한 안티센스 효과를 나타낸다(Bacon et al, Oncogene Res., 1991, 6, 13). mRNA의 서열이 알려지지 않은 경우에는 유전코드(genetic code)를 이용하여 단백질의 서열을 해석하여 안티센스 올리고머의 목표인 mRNA의 서열을 결정할 수 있으며, 만일 단백질 서열이 알려지지 않은 경우에는 알려진 기술에 의해 단백질을 분리하고 서열을 결정하여 이를 이용할 수 있다. 또한 단백질을 생산하는 mRNA나 DNA를 새로이 분리·규명하고, 그 서열을 알려진 방법으로 연구하여 이를 이용할 수도 있다.

- <88> mRNA 서열에 상보하는 안티센스 올리고머의 크기는 4~30개의 모노머로 구성되는 것이 바람직하며, 7~22개가 보다 바람직하다.
- <89> 본 발명의 올리고머는 정상세포, 암세포, 종양세포, 원형질 세포, 무형질세포, 및 바이러스 등을 포함한 다양한 세포에 존재하는 DNA 또는 RNA에 결합할 수 있다. 결합서열은 박테리아 서열, 바이러스 서열, 암세포 서열, 염색체 서열, 미토콘드리아 서열 및 플라스미드 서열 등이 있을 수 있다. 본 발명의 올리고머와 DNA 또는 RNA와의 결합은 단백질 생산을 억제할 수도 있고, 또는 유전자 발현을 억제하는 단백질(억제단백질)의 발현을 억제함으로써, 특정단백질 생산을 촉진할 수도 있다.
- <90> 또한, 본 발명의 올리고머는 바이러스나 박테리아로 인한 감염질환, 암 및 면역질환, 심장수술후의 재발협착증(coronary restenosis) 등의 치료에 사용할 수 있다. 바이러스 질환으로는 에이즈, 간염 B형 및 C형, 허피스 및 사이토메갈로바이러스

(cytomegalovirus) 등이 있으며, 암의 경우에는 목적 서열이 DNA 또는 RNA와 관련된 c-myc, c-erbB-2 등의 온코진(oncogene), 종양 억제 유전자(tumor suppress gene), 및 암과 관련된 단백질 유전자 (protein kinase A, protein kinase C, c-raf kinase, bcl-2, bcr.abl 등의 단백질) 등을 포함하며, 자가면역질환으로는 류마티스관절염, 건선, 크론병, 신경성 다발염, 제1형 당뇨병 및 루푸스 등의 질환이 있다.

<91> 본 발명의 뉴클레오타이드 모노머, 안티센스 올리고머, 또는 키메라 올리고머는 임상투여시에 비경구 또는 경구로 투여가 가능하다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 하나 이상의 화학식 1의 화합물에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (Calcium carbonate), 수크로스 (Sucrose) 또는 락토오스 (Lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 캡슐, 동결건조제제, 연고제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁용제로는 프로필렌글리콜 (Propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 특히 리포솜 (liposome), PEG화된 리포솜 (PEGylated liposome), 혹은 양이온성 지질 (cationic lipid) 과 같은 올리고머를 세포내로 용이하게 전달시키는 전달체를 사용할 수 있다. 좌제의 기제로는 위텡솔 (witepsol), 마크로콜, 트윈 (tween) 61, 카카오지,

라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

<92> 본 발명의 뉴클레오타이드 모노머, 안티센스 올리고머, 또는 키메릭 올리고머를 단백질 생산 억제제 또는 차단제, 바이러스나 박테리아로 인한 감염질환, 암, 또는 면역질환 치료제로 사용하기 위한 유효용량은 0.1 ~ 50 mg/kg 이고, 바람직하기로는 0.2 ~ 2 mg/kg 이다.

<93> 본 발명의 올리고머는 세포내의 핵산뿐 아니라 단백질에도 결합할 수 있으므로, 단백질의 연구에 유용하다. 이 때, 단백질은 리셉터, 효소, 리간드 등을 포함하며 유해 단백질의 작용을 억제할 수 있다.

<94> 또한, 본 발명의 올리고머는 중합효소 연쇄 반응에 시발체로 사용될 수 있으며, PCR에서 안정되고 특이적인 결합을 할 수 있다는 장점을 가지고 있다.

<95> 본 발명의 올리고머는 또한 핵산의 하이브리디제이션을 이용한 진단시험 시, 탐침(probe)으로 이용할 수 있다(Nucleic Acids Res., 1995, 23, 217).

<96> 또한, 본 발명의 올리고머는 보호기의 유무에 관계없이 여러 가지 용도로 쓰일 수 있으며, 또한 정제과정을 거친 후 사용될 수도 있다. 정제방법은 얇은 막 액체 크로마토그래피, 역상 고성능 액체크로마토그래피(reverse phase HPLC), 이온교환크로마토그래피, 또는 전기영동법을 통해 이루어진다.

<97> 이하, 본 발명을 실시예에 의하여 상세히 설명한다.

<98> 하기 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것이며, 본 발명의 내용이 실시예에 의해

한정되는 것은 아니다.

<99> 모노머 뉴클레오타이드의 합성

<100> <실시예 1> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이하틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<101> (단계 1) 1, 2-이소프로필리덴-5-케토- α -D-글루코퓨라노즈의 제조

<102> 다이부틸틴옥사이드(Bu_2SnO , 48.6 g, 195 mmol)를 메탄올(500 mL)에 녹아 있는 1, 2-이소프로필리덴-D-글루코퓨라노즈(20 g, 91 mmol)에 가한 후 이를 1시간 반 동안 가열 환류하였다. 반응물을 상온까지 식힌 후 용매를 감압 하에서 증류, 제거하였다. 잔사에 메틸렌클로라이드(CH_2Cl_2 , 500 mL)를 가한 후 이를 0 °C까지 냉각시키고 메틸렌클로라이드(CH_2Cl_2 , 100 mL)에 녹인 브로민(Br_2 , 5.2 mL, 102 mmol)을 천천히 적가하였다. 적가가 완료되면 같은 온도에서 10분간 교반시킨 후 용매를 감압 하에서 증류, 제거하였다. 용매가 완전히 제거된 잔사(고체)에 메탄올과 헥산을 조금씩 가하여 고체가 완전히 용해된 두 층의 유기층액을 얻었다. 헥산층을 제거하고 메탄올층을 감압하에서 농축시킨 후 이를 컬럼 크로마토그래피(1%/ 10% MeOH/ CH_2Cl_2)로 정제하여 10.4 g의 생성물을 얻었다(수율 53 %). 이는 다음 문헌을 참고하였으나 반응 후의 처리 과정을 통하여 분리시간을 줄이고 수율을 향상시켰다(참고문헌: Baxter, E. W., Reitz, A. B. J. Org. Chem. (1994), vol 59, p. 3175).

<103> ^1H NMR (D_2O) δ 1.30 (s, 3H), 1.44 (s, 3H), 4.42 (d, 1H, $J=3$ Hz), 4.59 (d, 1H, $J=3.2$ Hz), 4.68 (m, 1H), 4.94 (d, 1H, $J=3.3$ Hz), 6.06 (d, 1H, $J=3.5$ Hz).

<104> (단계 2) 5-케토-D-글루코즈의 제조

<105> 도웁스 50WX 8-200 수지(69.83 g)를 상기 (단계1)의 표제 화합물(13.65 g, 62.55 mmol)의 증류수(200 mL) 용액에 가하고, 이를 상온에서 36시간동안 교반시켰다. 반응물 속의 수지를 여과제거하고 여액을 동결 건조시켜 10.3 g(수율 92 %)의 생성물을 얻었다.

<106> ^1H NMR (D_2O) δ 3.12 (t, 1H, $J=8.8$ Hz), 3.40 (brt, 2H, $J=9.9$ Hz), 3.51 (d, 1H, $J=11.8$ Hz), 3.57 (t, 1H, $J=10.1$ Hz), 4.83 (d, 1H, $J=8.2$ Hz)

<107> (단계 3) (3S,4R,5R,6R)-2-(하이드록시메틸)-N-벤즈하이드릴피페리딘-3,4,5-트리올의 제조

<108> 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물(8.24 g, 46.26 mmol)을 메탄올(200 mL)에 녹인 후, 이를 영하 78 $^{\circ}\text{C}$ 에서 아미노다이페닐메탄(6.76 g, 36.89 mmol)과 초산(2.22 g, 36.97 mmol)의 메탄올(300 mL) 용액에 가하였다. 여기에 소듐시아노하이드라이드 (NaCNBH_3 , 5.82 g, 92.62 mmol)를 첨가하여 영하 78 $^{\circ}\text{C}$ 에서 두 시간동안 교반한 후, 상온으로 천천히 반응액의 온도를 올렸다. 반응액을 상온에서 이틀간 교반시킨 후 이를 감압증류하여 농축시키고, 여기에 포화 소듐카보네이트(Na_2CO_3)용액을 가하였다. 여기에 메틸렌클로라이드를 가하여 추출하고 유기층을 분리한 후, 황산나트륨(Na_2SO_4)으로 물을 제거하고 감압농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피 (CH_2Cl_2 100% - 10%

MeOH/CH₂Cl₂)로 정제하였다(5.9 g, 수율 39%).

<109> ¹H NMR (D₂O) δ 1.85 (brt, 1H, J=10.5 Hz), 2.38 (brd, 1H, J=9.2 Hz), 2.93 (dd, 1H, J=4.3, 11.3 Hz), 3.06 (brt, 1H, J=8.1 Hz), 3.51 (brm, 2H), 3.67 (brt, 1H, J=5.5 Hz), 3.83 (brd, 1H, J=4.5 Hz), 3.95 (brd, 1H, J=10.1 Hz), 3.99 (brd, 1H, J=4.8 Hz), 4.11 (brs, 1H), 4.22 (brd, 1H, J=11.5 Hz), 5.71 (s, 1H), 7.10 - 7.24 (m, 10H).

<110> (단계 4) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3,4-다이하이드록실-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<111> 증류 직후의 메틸렌클로라이드(100 mL)에 상기 (단계 3)의 표제화합물(3.5 g, 1.63 mmol)을 녹이고 α,p-다이메톡시스티렌(1.86 mL)과 피리디니움 p-톨루엔설풀레이트(0.92 g, 3.67 mmol)를 가하였다. 반응액을 상온에서 16시간동안 교반한 후, 포화 소듐카보네이트 용액 및 메틸렌클로라이드를 가하여 추출하고 유기층을 분리한 다음 건조, 감압농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(10% MeOH/CH₂Cl₂)로 정제하였다(다이하스테레오머 A:B = 1.7:1, 3.7g, 수율 76%).

<112> ¹H NMR (CDCl₃) 다이하스테레오머(diastereomer) A δ 1.79 (s, 3H), 1.92 (ddd, 1H, J=4.8, 10.7, 10.7 Hz), 2.46 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 3.07 (dd, 1H,

J=4.8, 11.3 Hz), 3.37 (dd, 1H, J=8.8, 9 Hz), 3.62 (dd, 1H, J=10.2, 10.5 Hz), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.90 (dd, 1H, J=9.2, 9.2 Hz), 4.50 (dd, 1H, J=4.7, 10.8 Hz), 5.04 (s, 1H), 6.89 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.15 - 7.38 (m, 10H), 7.50 (d, 2H, J=8.6 Hz); 다이아스테레오머 B δ 1.54 (s, 3H), 1.92 (ddd, 1H, J=4.8, 10.7, 10.7 Hz), 2.46 (m, 1H), 2.89 (m, 1H), 2.99 (dd, 1H, J=4.8, 11.3 Hz), 3.37 (dd, 1H, J=8.8, 9 Hz), 3.51 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.85 (s, 3H, OMe), 3.99 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 4.44 (dd, 1H, J=3.9, 10.2 Hz), 4.95 (s, 1H), 6.97 (d, 2H, J=8.5 Hz), 7.15 - 7.38 (m, 12H).

<113> (단계 5) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-4-하이드록실-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘

<114> 피리딘(8.81 g, 9.01 mmol)과 실버나이트레이트(AgNO_3 , 5.68 g, 33.42 mmol)를 테트라하이드로퓨란 (300 mL)에 녹인 상기 (단계 4)의 표제화합물을 하나의 다이아스테레오머 (13.18 g, 28.55 mmol)(혹은 다이아스테레오머 혼합물)에 가하고, 이 반응액을 상온에서 20분간 교반하였다. 여기에 3차 부틸다이메틸실릴클로라이드 (TBDMSiCl, 5.68 g, 37.73 mmol)를 가하여 상온에서 12시간 동안 반응시켰다. 반응액을 여과한 후 감압증류하여 농축시켰다. 포화 소듐바이카보네이트용액 및 메틸렌클로라이드를 가하여 추출하고 유기층을 분리한 후 건조, 감압농축시켰다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(10 % 에틸아세테이트/헥산)로 정제하였다(12 g, 수율 73 %).

<115> ^1H NMR (CDCl_3) 다이아스테레오머 A δ 0.00 (s, 3H, Si-Me), 0.07 (s, 3H, Si-Me),

0.84 (s, 9H, Si-tBu), 1.78 (s, 3H, Me), 1.92 (dd, 1H, J=11, 11 Hz), 2.45 (ddd, 1H, J=4.4, 9.7, 9.7 Hz), 2.61 (brs, 1H, OH), 2.90 (dd, 1H, J=4.7, 9.7 Hz), 3.39 (dd, 1H, J=8.7, 8.7 Hz), 3.77 (m, 1H), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.98 (dd, 1H, J=10.2, 10.6 Hz), 4.44 (dd, 1H, J=4.5, 10.5 Hz), 5.03 (s, 1H), 6.88 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.14 (d, 2H, J=8 Hz), 7.30 - 7.47 (m, 8H), 7.49 (s, 2H, J=8.8 Hz); 다이아스테레오머 B δ -0.07 (s, 3H, Si-Me), 0.03 (s, 3H, Si-Me), 0.82 (s, 9H, Si-tBu), 1.54 (s, 3H, Me), 1.90 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 2.48 (ddd, 1H, J=4, 10.4, 10.4 Hz), 2.82 (dd, 1H, J=4.8, 11.4 Hz), 3.38 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.52 (dd, 1H, J=8.9, 9.4 Hz), 3.55 (m, 1H), 3.62 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 3.86 (s, 3H, OMe), 4.39 (dd, 1H, J=4, 9.6 Hz), 4.94 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.15 - 7.47 (m, 12H).

<116> (단계 6) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<117> 아이오도메탄(2.74 g, 19.3 mmol, 1.2 mL)과 소듐 하이드라이드(0.933 g, 233.25 mmol)를 무수 테트라하이드로퓨란(100 mL)에 녹인 상기 (단계 5)의 표제화합물을 다이아스테레오머 A (5.6 g, 9.66 mmol)에 가하고 이 반응액을 질소하 실온에서 2시간 동안 교반하였다. 여기에 소금물(brine)을 가하고 메틸렌클로라이드로 추출한 다음, 유기층을 물로 씻고 건조, 감압농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피 (10 % 에틸아세테이트/헥산)로 정제하였다(5.38 g, 수율 94 %).

<118> ^1H NMR (CDCl_3) 다이아스테레오머 A δ 0.00 (s, 3H, Si-Me), 0.06 (s, 3H, Si-Me),

0.83 (s, 9H, Si-tBu), 1.75 (s, 3H, Me), 1.91 (dd, 1H, J=10.8, 10.8 Hz), 2.42 (ddd, 1H, J=3.6, 9.3, 9.3 Hz), 2.87 (dd, 1H, J=5, 11.4 Hz), 3.00 (dd, 1H, J=8.7, 8.7 Hz), 3.63 (s, 3H, OMe), 3.57 (m, 1H), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.93 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.96 (dd, 1H, J=10, 10 Hz), 4.45 (dd, 1H, J=4.6, 10.8 Hz), 5.02 (s, 1H), 6.89 (d, 2H, J=8.9 Hz), 7.14 - 7.47 (m, 10H), 7.48 (d, 2H, J=8.8 Hz); 다이아스테레오머 B δ -0.07 (s, 3H, Si-Me), 0.05 (s, 3H, Si-Me), 0.82 (s, 9H, Si-tBu), 1.50 (s, 3H, Me), 1.83 (dd, 1H, J=11, 11 Hz), 2.43 (m, 1H, J=3.6, 9.3, 9.3 Hz), 2.79 (dd, 1H, J=5, 11.3 Hz), 2.97 (dd, 1H, J=8.7, 8.7 Hz), 3.52 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.53 (dd, 1H, J=10, 10 Hz), 3.67 (s, 3H, OMe), 3.77 (m, 1H), 3.86 (s, 3H, OMe), 4.38 (dd, 1H, J=4, 10.5 Hz), 4.91 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, J=8.9 Hz), 7.14 - 7.46 (m, 12H).

<119> (단계 7)

(3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-하이드록실-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴] 피페리딘의 제조

<120> 테트라부틸암모늄 플로라이드(테트라하이드로퓨란에 녹아있는 1 M 용액, 25 mL, 25 mmol)을 테트라하이드로퓨란 (125 mL)에 녹인 상기 (단계 6)의 표제화합물 (4.94 g, 8.38 mmol)에 가하고 실온에서 2.5시간 동안 교반시킨 후 이를 감압증류하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(10 - 40 % 에틸아세테이트/헥산)로 정제하였다(3.44 g, 수율 86 %).

<121> ^1H NMR (CDCl_3) 다이아스테레오머 A δ 1.77 (s, 3H, Me), 1.93 (dd, 1H, J=10.8,

10.8 Hz), 2.47 (ddd, 1H, J=4.7, 10.1, 10.1 Hz), 3.02 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.08 (dd, 1H, J=5, 11.2 Hz), 3.71 (s, 3H, OMe), 3.82 (s, 3H, OMe), 4.00 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 4.03 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 4.51 (dd, 1H, J=4.5, 10.8 Hz), 5.05 (s, 1H), 6.89 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.14 - 7.47 (m, 10H), 7.47 (d, 2H, J=8.8 Hz); 다이아스테레오머 B δ 1.58 (s, 3H, Me), 1.91 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 2.48 (ddd, 1H, J=4, 10.3, 10.3 Hz), 3.02 - 2.98 (m, 2H), 3.70 - 3.57 (m, 3H), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.86 (s, 3H, OMe), 4.45 (dd, 1H, J=4, 10.5 Hz), 4.95 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.16 - 7.39 (m, 12H).

<122> (단계 8) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-메탄설폰닐-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<123> 메탄설폰닐 클로라이드(2.15 g, 18.81 mmol)와 트리에틸아민(1.46 mL)을 증류한 메틸렌클로라이드(100 mL)에 녹인 상기 (단계 7)의 표제화합물(2.98 g, 6.27 mmol)에 가하고 1시간동안 교반하였다. 여기에 소듐 바이카보네이트용액 및 메틸렌클로라이드를 가하여 추출하고 유기층을 분리한 다음, 건조시키고 감압농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(20 % - 50 % 에틸아세테이트/헥산)로 정제하였다 (3.44 g, 수율 99 %).

<124> ^1H NMR (CDCl_3) 다이아스테레오머 A δ 1.77 (s, 3H, Me), 2.07 (dd, 1H, J=11, 11 Hz), 2.44 (ddd, 1H, J=4.7, 9.9, 9.9 Hz), 3.09 (s, 3H, OMs), 3.21 (m, 1H), 3.22 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.67 (s, 3H, OMe), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.99 (dd, 1H, J=10.6, 10.6 Hz), 4.03 (dd, 1H, J=9.1, 9.1 Hz), 4.52 (dd, 1H, J=4.5, 10.9 Hz), 4.59 (ddd,

1H, J=5.2, 10.5, 10.5 Hz), 5.07 (s, 1H), 6.89 (d, 2H, J=8.9 Hz), 7.15 - 7.38 (m, 10H), 7.46 (d, 2H, J=8.9 Hz); 다이아스테레오머 B δ 1.53 (s, 3H, Me), 2.04 (dd, 1H, J=10.9, 10.9 Hz), 2.45 (ddd, 1H, J=4, 10.2, 10.2 Hz), 3.07 (s, 3H, OMs), 3.19 (dd, 1H, J=9.2, 9.2 Hz), 3.60 (dd, 1H, J=4, 10.4 Hz), 3.62 (dd, 1H, J=9.1, 9.1 Hz), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.87 (s, 3H, OMe), 4.40 (dd, 1H, J=5.2, 9.3 Hz), 4.43 (ddd, 1H, J=4.2, 10.8, 10.8 Hz), 4.96 (s, 1H), 6.99 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.14 - 7.39 (m, 12H).

<125> (단계 9) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<126> 아데닌(0.82 g, 6.07 mmol), 소듐 하이드라이드(304 mg, 7.6 mmol), 18-크라운-6(319 mg, 1.21 mmol)을 무수 N,N-다이메틸포름아마이드(75 mL)에 넣고 80 °C에서 1시간 동안 교반하였다. 이 용액에 무수 N,N-다이메틸포름아마이드(25 mL)에 녹인 상기 (단계 8)의 표제화합물 다이아스테레오머 B(1.67 g, 3.02 mmol) (혹은 다이아스테레오머 A나 A와 B의 혼합물)를 가하고 100 °C로 가열한 상태에서 16시간 동안 교반하였다. 반응물을 냉각하고 감압증발시킨 후, 에틸아세테이트(400 mL)에 녹이고 포화 소듐 바이카보네이트 용액(25 mL)과 물(50 mL)로 씻어 내었다. 유기층을 건조시키고 감압농축한 후, 잔사를 컬럼 크로마토그래피 (5 % 메탄올/메틸렌클로라이드)로 정제하였다(900 mg, 50 %).

<127> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.55 (s, 3H), 2.74 (m, 2H), 2.80 (dd, 1H, J=11.3, 11.5 Hz), 2.98 (m, 1H), 3.37 (s, 3H, OMe), 3.69 (dd, 1H, J=10.4, 10.4 Hz), 3.92 (m, 2H),

3.93 (s, 3H, OMe), 4.47, (ddd, 1H, J=4, 10.6, 10.6 Hz), 4.48 (m, 1H), 5.02 (s, 1H), 6.99 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.13 - 7.42 (m, 12H), 7.71 (s, 1H), 8.32 (s, 1H).

<128> (단계 10) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<129> 피리딘(100 mL)에 상기 (단계 9)의 표제화합물(1.65 g, 2.78 mmol)을 녹이고 0 °C로 냉각하였다. 벤조일 클로라이드(1.17 g, 8.34 mmol)를 30분 동안 떨어뜨리고 실온에서 2시간동안 교반하였다. 이를 다시 0 °C로 냉각시키고 물(2.7 mL)을 가하여 5분간 교반하였다. 암모니아수(5.56 mL)를 실온에서 가하고 15분간 교반 후에 물(500 mL)을 첨가하고 메틸렌클로라이드(200 mL)로 추출하였다. 유기층을 건조시키고 감압농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피 (10 % 메탄올/메틸렌클로라이드)로 정제하였다(1.27 g, 66 %).

<130> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.55 (s, 3H), 2.75 (ddd, 1H, J=3, 9.1, 9.1 Hz), 2.82 (dd, 1H, J=11.4, 11.4 Hz), 3.05 (dd, J=4.5, 11.3 Hz), 3.39 (s, 3H, OMe), 3.71 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 3.82 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.88 (s, 3H, OMe), 3.96 (dd, 1H, J=9.1, 10 Hz), 4.49 (m, 2H), 5.03 (s, 1H), 7.00 (d, 2H, J=8.7 Hz), 7.13 - 7.41 (m, 12H), 7.52 (t, 2H, J=6.7 Hz), 7.60 (d, 1H, J=7.1 Hz), 7.91 (s, 1H), 8.02 (d, 2H, J=7.3 Hz), 8.75 (s, 1H).

<131> (단계 11)

6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-메톡시
피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<132> 80 % 아세트산(10 g)에 상기 (단계 10)의 표제화합물(1.22 g, 1.75 mmol)을 녹이고 45 - 50 °C에서 3시간 동안 교반하였다. 메틸렌클로라이드(100 ml)와 포화 소듐 바이카보네이트 용액(20 mL)을 가하고 유기층을 분리한 후, 건조시키고 감압농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피(5 % 메탄올/메틸렌클로라이드)로 정제하였다(543 mg, 55 %).

<133> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.74 (m, 1H), 2.97 (dd, 1H, $J=11$, 11 Hz), 3.10 (s, 3H, OMe), 3.19 (dd, 1H, $J=4$, 12 Hz) 3.78 (dd, 1H, $J=8.5$, 9.7 Hz), 4.02 (dd, 1H, $J=8.5$, 8.5 Hz), 4.17 (dd, 1H, $J=2$, 12 Hz), 4.27 (dd, 1H, $J=3.5$, 12 Hz), 4.61 (ddd, 1H, $J=4.2$, 10.5, 10.5 Hz), 5.55 (s, 1H), 7.19 - 7.53 (m, 10H), 7.55 (t, 2H, $J=7$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J=7$ Hz), 8.02 (s, 1H), 8.04 (d, 2H, $J=7.2$ Hz), 8.76 (s, 1H).

<134> (단계 12) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸 옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<135> 4,4'-다이메톡시트리틸 클로라이드(0.752 g, 2.22 mmol)를 피리딘(10 mL)에 녹인 상기 (단계 11)의 표제화합물(500 mg, 0.89 mmol)에 0 °C에서 가하고 16시간 동안 교반시킨 후 이를 감압농축하고 5 % 소듐 바이카보네이트 용액(10 mL)을 가하였다. 여기에 메틸렌클로라이드(100 mL)를 가하여 추출하고 유기층을 분리한 후, 건조시키고 감압농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피($\text{EtOAc}:\text{Hexane}:\text{TEA} = 50:50:1$)로 정제하였다(672 mg, 88 %).

<136> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.68 (m, 1H), 2.78 (m, 1H), 2.97 (dd, 1H, $J=11, 11$ Hz), 3.09 (s, 3H, OMe), 3.12 (dd, 1H, $J=4.2, 11.8$ Hz) 3.65 (dd, 1H, $J=3.2, 10.4$ Hz), 3.793 (s, 3H, OMe), 3.796 (s, 3H, OMe), 4.21 (dd, 1H, $J=8.5, 8.5$ Hz), 4.63 (ddd, 1H, $J=4.2, 10.3, 10.3$ Hz), 5.09 (s, 1H), 6.81 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 6.82 (d, 2H, $J=9$ Hz), 7.18 - 7.32 (m, 16H), 7.37 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.38 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.51 (t, 2H, $J=6.8$ Hz), 7.59 (d, 1H, $J=7.2$ Hz), 8.01 (s, 1H), 8.02 (d, 2H, $J=7$ Hz), 8.78 (s, 1H).

<137> (단계 13) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<138> 상기 (단계 12)의 표제화합물(654 mg, 0.754 mmol)을 진공 펌프를 이용하여 무수 톨루엔으로 3번 증발시킨 후, 질소하에서 메틸렌클로라이드(7 mL)에 녹이고 N,N-다이이소프로필에틸아민(356 μl)을 가하였다. 여기에 2-시아노에틸 N,N-다이이소프로필 클로로 포스포아미다이트(356 μl)를 가하였다. 이 반응액을 질소하에서 5시간 동안 교반시킨후, 5 % 소듐 바이카보네이트 용액(10 mL)을 가하고 메틸렌클로라이드(100 mL)로 추출하였다. 유기층을 건조시키고 감압농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피 (EtOAc:Hexane:TEA = 50:50:1)로 정제하였다(다이아스테레오머 혼합물 465 mg, 58 %).

<139> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.04 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.15 (d, 6H, $J=6.5$ Hz), 1.19 (d, 6H, $J=6.5$ Hz), 1.21 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 2.52 (t, 4H, $J=6$ Hz), 2.63 (d, 1H, $J=11.1$ Hz),

2.73 (dd, 1H, J=2, 13 Hz), 2.84 (dd, 1H, J=4, 6 Hz), 2.92 (dd, 1H, J=3.5, 13.5 Hz), 3.27 (s, 3H, OMe), 3.33 (s, 3H, OMe), 3.36 - 3.80 (m, 11H), 3.834 (s, 6H, OMe), 3.838 (s, 6H, OMe), 3.84 (m, 2H), 4.34 (d, 2H, J=11.1 Hz), 4.40 (d, 2H, J=10.6 Hz), 4.68 (s, 1H), 4.70 (s, 1H), 4.77 (m, 2H), 6.83 (d, 8H, J=8.8 Hz), 7.12 - 7.39 (m, 30H), 7.55 (t 4H, J=7 Hz), 7.62 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.07 (d, 4H, J=7.3 Hz), 8.72 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 9.06 (s, 1H), 9.32 (s, 1H).

<140> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 149.01, 150.07.

<141> <실시예 2> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일}아테닌의 제조

<142> (단계 1) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<143> 이 화합물은 실시예 1의 (단계 5)에서 얻어진 다이아스테레오머 A(혹은 다이아스테레오머 B나 A와 B의 혼합물)를 출발물질로 하여 실시예 1의 (단계 6)과 같은 과정으로 아이오도에탄(EtI)을 사용하여 제조하였다.

<144> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.02 (s, 3H, Si-Me), 0.07 (s, 3H, Si-Me), 0.83 (s, 9H, Si-tBu), 1.24 (t, 3H, J=7.1 Hz, OCH_2C

H₃), 1.75 (s, 3H, Me), 1.91 (dd, 1H, J=10.8, 10.8 Hz), 2.43 (ddd, 1H, J=4.6, 9.4, 9.4 Hz), 2.88 (dd, 1H, J=4.8, 11.5 Hz), 3.08 (dd, 1H, J=8.7, 8.7 Hz), 3.74 (m, 1H), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.94 (m, 4H), 4.45 (dd, 1H, J=4.2, 10.3 Hz), 5.03 (s, 1H), 6.88 (d, 2H, J=8.9 Hz), 7.14 - 7.40 (m, 10H), 7.46 (d, 2H, J=8.9 Hz).

<145> (단계 2) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-하이드록실-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<146> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 7)과 같은 과정으로 제조하였다.

<147> ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.26 (t, 3H, J=7 Hz, OCH₂CH₃), 1.76 (s, 3H, Me), 1.93 (dd, 1H, J=10.8, 10.8 Hz), 2.45 (ddd, 1H, J=4.4, 9.7, 10.1 Hz), 3.11 (m, 2H), 3.71 (m, 1H), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.99 (m, 1H), 4.03 (dd, 1H, J=4.2, 9 Hz), 4.12 (q, 2H, J=7 Hz), 4.51 (dd, 1H, J=4, 6 Hz), 5.05 (s, 1H), 6.90 (d, 2H, J=9 Hz), 7.14 - 7.36 (m, 10H), 7.45 (d, 2H, J=9 Hz).

<148> (단계 3) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-메탄설포닐-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<149> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 8)과 같은 과정으로 제조하였다.

<150> ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.24 (t, 3H, J=7 Hz, OCH₂C

H_3), 1.77 (s, 3H, Me), 2.07 (dd, 1H, $J=11.1, 11.1$ Hz), 2.43 (ddd, 1H, $J=4.5, 9.7, 9.7$ Hz), 3.11 (s, 3H, OMs), 3.25 (dd, 1H, $J=5.3, 11.3$ Hz), 3.32 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 3.71 (q, 2H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.82 (s, 3H, OMe), 4.03 (m, 2H), 4.03 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 4.52 (dd, 1H, $J=4.4, 11$ Hz), 4.58 (ddd, 1H, $J=5.2, 9.8, 9.8$ Hz), 5.07 (s, 1H), 6.89 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.13 - 7.37 (m, 10H), 7.44 (d, 2H, $J=8.8$ Hz).

<151> (단계 4) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<152> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 9)와 같은 과정으로 제조하였다.

<153> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 1.80 (s, 3H, Me), 2.71 (ddd, 1H, $J=4.4, 9.8, 9.8$ Hz), 2.90 (dd, 1H, $J=11.3, 11.3$ Hz), 3.10 (dd, 1H, $J=4.7, 11.1$ Hz), 3.23 (q, 1H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.76 (q, 1H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.95 (dd, 1H, $J=9.9, 9.9$ Hz), 4.07 (dd, 1H, $J=10.6, 10.6$ Hz), 4.20 (dd, 1H, $J=8.9, 8.9$ Hz), 4.53 (dd, 1H, $J=4.5, 11$ Hz), 4.64 (ddd, 1H, $J=4.5, 10.8, 10.8$ Hz), 5.13 (s, 1H), 6.88 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.14 - 7.47 (m, 12H), 7.73 (s, 1H), 8.31 (s, 1H).

<154> (단계 5) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<155> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 10)과 같은 과정으로 제조하였다.

<156> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.79 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 1.81 (s, 3H, Me), 2.73 (ddd, 1H, $J=4.4, 9.7, 9.7$ Hz), 2.93 (dd, 1H, $J=11.5, 11.5$ Hz), 3.15 (dd, 1H, $J=4.4, 11.3$ Hz), 3.22 (q, 1H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.80 (q, 1H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.98 (dd, 1H, $J=9.1, 9.1$ Hz), 4.08 (dd, 1H, $J=10.6, 10.6$ Hz), 4.23 (dd, 1H, $J=8.9, 8.9$ Hz), 4.54 (dd, 1H, $J=4.5, 10.9$ Hz), 4.72 (ddd, 1H, $J=4.6, 8.8, 9.9$ Hz), 5.14 (s, 1H), 6.88 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.14 - 7.56 (m, 15H), 7.95 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.76 (s, 1H).

<157> (단계 6) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<158> 이 화합물은 상기 (단계 5)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<159> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.85 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 2.73 (m, 1H), 2.98 (m, 2H), 3.05 (d, 1H, $J=11.2$ Hz), 3.20 (dd, 1H, $J=4.1, 11.6$ Hz), 3.37 (dq, 1H, $J=2.3, 7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.81 (dd, 1H, $J=9.5, 9.5$ Hz), 4.01 (dd, 1H, $J=8.4, 8.4$ Hz), 4.28 (dd, 1H, $J=3.3, 12.1$ Hz), 4.59 (ddd, 1H, $J=4, 10.3, 10.3$ Hz), 5.56 (s, 1H), 7.20 - 7.64 (m, 13H), 8.01 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.76 (s, 1H).

<160> (단계 7) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이에틸트리틸 옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<161> 이 화합물은 상기 (단계 6)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<162> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.84 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 2.51 (d, 1H, $J=3$ Hz), 2.64 (d, 1H, $J=8.5$ Hz), 2.91 (dq, 1H, $J=2.3, 7$ Hz), 3.06 (dd, 1H, $J=10.9$ Hz), 3.15 (dd, 1H, $J=4.6, 11.4$ Hz), 3.41 (dq, 1H, $J=2.3, 7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.66 (dd, 1H, $J=3.2, 10.4$ Hz), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.80 (s, 3H, OMe), 3.81 (m, 1H), 4.22 (dd, 1H, $J=2.5, 7.4$ Hz), 4.62 (ddd, 1H, $J=4.4, 10.4, 10.4$ Hz), 5.09 (s, 1H), 6.82 (d, 2H, $J=9$ Hz), 6.83 (d, 2H, $J=9$ Hz), 7.18 - 7.65 (m, 22H), 8.01 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.79 (s, 1H).

<163> (단계 8) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<164> 이 화합물은 상기 (단계 7)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<165> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.01 (t, 3H, $J=6.8$ Hz, OCH_2CH_3), 1.03 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.13 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.16 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.20 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 2.52 (m, 4H), 2.60 (d, 2H, $J=11.1$ Hz), 2.78 (dd, 2H, 3.7, 11.5 Hz), 2.94 (dd, 2H, $J=3.6, 11.4$

Hz), 3.01 (dd, 2H, J=4.7, 11.1 Hz), 3.18 - 3.80 (m, 16H), 3.83 (s, 6H, OMe), 3.84 (s, 6H, OMe), 4.28 (d, 2H, J=13.6 Hz), 4.41 (d, 2H, J=13.5 Hz), 4.72 (m, 2H), 4.76 (s, 2H), 6.82 (d, 8H, J=8.7 Hz), 7.08 - 7.66 (m, 44H), 8.07 (d, 4H, J=7.2 Hz), 8.73 (s, 1H), 8.75 (s, 1H), 9.08 (s, 1H), 9.34 (s, 1H).

<166> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ 148.85, 149.96.

<167> <실시예 3> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시에톡시피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<168> (단계 1) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-차부틸다이메틸실릴옥시-4-에톡시메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<169> 실시예 1의 단계 5에서 얻어진 다이아스테레오머 B(혹은 다이아스테레오머 A나 A와 B의 혼합물)(200 mg, 0.61 mmol)를 무수 테트라하이드로퓨란(5 mL)에 녹였다. 여기에 무수 테트라하이드로퓨란(2 mL)에 녹인 소듐 하이드라이드(72 mg, 1.8 mmol)을 가하고 반응액의 온도를 60 °C로 올린 다음 2-브로모에틸메틸에테르(171 μL , 1.8 mmol)을 가하여 하루동안 60 °C에서 교반하였다. 물을 가하고 반응액을 에틸아세테이트로 추출하고, 소듐 설페이트로 물을 제거한 후 감압 농축하였다. 잔사를 실리카겔과 5 % - 10 % 에틸아세테이트/헥산 용매를 써서 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(215 mg, 56 %).

<170> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.13 (s, 3H, Si-Me), 0.20 (s, 3H, Si-Me), 0.83 (s, 9H,

Si-tBu), 1.51 (s, 3H, Me), 1.83 (dd, 1H, J=11, 11 Hz), 2.41 (m, 1H), 2.87 (dd, 1H, J=5, 11.4 Hz), 3.03 (dd, 1H, J=4.7, 11.5 Hz), 3.23 (s, 3H, OMe), 3.26 - 3.61 (m, 4H), 3.73 (ddd, 1H, J=5, 8.7, 8.7 Hz), 3.85 (s, 3H, OMe), 3.92 (d, 1H, J=9 Hz), 3.98 (d, 1H, J=10.7 Hz), 4.42 (m, 1H), 4.95 (s, 1H), 6.93 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.16 - 7.40 (m, 12H).

<171> (단계 2) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-하이드록실-4-메톡시에톡시-5,6-O- [(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<172> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 7)과 같은 과정으로 제조하였다.

<173> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.51 (s, 3H, Me), 1.88 (dd, 1H, J=10.8, 10.8 Hz), 2.45 (ddd, 1H, J=2.8, 9.2, 9.2 Hz), 2.76 (m, 1H), 3.02 (dd, 1H, J=5, 11.8 Hz), 3.11 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.43 (s, 3H, OMe), 3.55 - 3.68 (m, 4H), 3.86 (s, 3H, OMe), 3.90 (m, 1H), 4.26 (ddd, 1H, J=3, 5.4, 11.8 Hz), 4.44 (dd, 1H, J=4, 11 Hz), 4.93 (s, 1H), 6.97 (d, 2H, J=8.7 Hz), 7.20 - 7.40 (m, 12H).

<174> (단계 3) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-메탄설포닐-4-메톡시에톡시-5,6-O- [(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<175> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 8)과 같은 과정으로 제조하였다.

<176> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.52 (s, 3H, Me), 2.04 (dd, 1H, $J=11$, 11 Hz), 2.46 (ddd, 1H, $J=4$, 10, 10 Hz), 3.15 (s, 3H, OMs), 3.33 (d, 1H, $J=11$ Hz), 3.41 (s, 3H, OMe), 3.61 - 3.68 (m, 2H), 3.86 (s, 3H, OMe), 3.88 (m, 1H), 4.18 (dd, 1H, $J=3$, 5.7 Hz), 4.22 (dd, 1H, $J=3$, 5.7 Hz), 4.39 (dd, 1H, $J=4.5$, 9.5 Hz), 4.45 (dd, 1H, $J=4$, 10 Hz), 4.95 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.14 - 7.40 (m, 12H).

<177> (단계 4) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<178> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 9)와 같은 과정으로 제조하였다.

<179> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.54 (s, 3H, Me), 2.75 (ddd, 1H, $J=4$, 10, 10 Hz), 2.95 (m, 1H), 3.12 (s, 3H, OMe), 3.14 - 3.22 (m, 2H), 3.48 (ddd, 1H, $J=3$, 5.8, 5.8), 3.81 (dd, 1H, $J=6.2$, 6.2 Hz), 3.85 (m, 1H), 3.87 (s, 3H, OMe), 3.94 (ddd, 1H, $J=3.2$, 6, 11.4 Hz), 4.13 (dd, 1H, $J=9.5$, 9.5 Hz), 4.42 (dd, 1H, $J=5$, 10.2 Hz), 4.47 (dd, 1H, $J=4$, 10.5 Hz), 5.00 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.14 - 7.44 (m, 12H), 7.74 (s, 1H), 8.30 (s, 1H).

<180> (단계 5) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<181> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 10)과

같은 과정으로 제조하였다.

<182> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.55 (s, 3H, Me), 2.74 (ddd, 1H, $J=5, 9, 9$ Hz), 2.97 (dd, 1H, $J=11.2, 11.2$ Hz), 3.03 (m, 1H), 3.11 (s, 3H, OMe), 3.14 - 3.21 (m, 2H), 3.46 (ddd, 1H, $J=3.1, 6, 11.5$), 3.70 (dd, 1H, $J=10.5, 10.5$ Hz), 3.83 (d, 1H, $J=8.9$ Hz), 3.88 (s, 3H, OMe), 3.98 (ddd, 1H, $J=3, 5.5, 5.5$ Hz), 4.17 (dd, 1H, $J=9.2, 9.2$ Hz), 4.51 (m, 1H), 4.54 (ddd, 1H, $J=5, 11, 11$ Hz), 5.02 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.14 - 7.62 (m, 12H), 7.96 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, $J=7.4$ Hz), 8.76 (s, 1H).

<183> (단계 6) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-메톡시에톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<184> 이 화합물은 상기 (단계 5)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)와 같은 과정으로 제조하였다.

<185> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.69 (m, 1H), 2.90 (dd, 1H, $J=11.5, 11.5$), 3.17 (dd, 1H, $J=4, 11.5$ Hz), 3.31 (s, 3H, OMe), 3.24 - 3.40 (m, 4H), 3.89 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 4.01 (dd, 1H, $J=8.7, 8.7$ Hz), 4.23 (m, 2H), 4.57 (ddd, 1H, $J=4, 10.7, 10.7$ Hz), 5.59 (s, 1H), 7.17 - 7.38 (m, 10H), 7.51 (t, 2H, $J=7.2$ Hz), 7.59 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 7.90 (s, 1H), 8.05 (d, 2H, $J=7.2$ Hz), 8.72 (s, 1H).

<186> (단계 7) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시에톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<187> 이 화합물은 상기 (단계 6)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<188> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.60 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 3.16 (dd, 1H, $J=4.3, 11.3$), 3.36 (s, 3H, OMe), 3.26 - 3.38 (m, 4H), 3.57 (d, 1H, $J=9.5$ Hz), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.86 (d, 1H, $J=9.8$ Hz), 3.95 (dd, 1H, $J=10, 10$ Hz), 4.33 (dd, 1H, $J=8.8, 8.8$ Hz), 4.63 (ddd, 1H, $J=4.2, 10.8, 10.8$ Hz), 5.02 (s, 1H), 6.79 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.81 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.22 - 7.42 (m, 12H), 7.53 (t, 2H, $J=7.3$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 7.97 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.78 (s, 1H).

<189> (단계 8) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시에톡시피페리딘-3-일} 아데닌의 제조

<190> 이 화합물은 상기 (단계 7)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)와 같은 과정으로 제조하였다.

<191> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.01 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.15 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.19 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.24 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 2.49 (m, 4H), 2.60 (m, 2H), 2.77 (m, 3H), 2.94 (m, 2H), 3.21 (s, 3H, OMe), 3.23 (s, 3H, OMe), 3.27 - 3.59 (m, 18H), 3.83 (s, 12H, OMe), 4.17 (m, 1H), 4.28 (d, 2H, $J=13.4$ Hz), 4.40 (d, 2H, $J=12.3$ Hz), 4.75 (s, 2H), 4.77 (m, 2H), 6.81 (d, 8H, $J=8.4$ Hz), 7.06 - 7.35 (m, 38H), 7.53 (d, 4H, $J=7.5$ Hz), 7.61 (d, 2H, $J=7.5$ Hz), 8.05 (d, 4H, $J=7.3$ Hz), 8.75 (s, 1H), 9.02 (s,

1H), 9.13 (s, 1H), 9.29 (s, 1H).

<192> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 148.99, 149.77.

<193> <실시예 4> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<194> (단계 1) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이에틸실릴옥시-4-(이미다졸-1-일) -치오카르복실-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<195> 1,1'-치오카보닐다이이미다졸(12.44 g, 69.81 mmol)을 아세트나이트릴 (200 mL)에 녹인 실시예 1의 단계 6에서 얻어진 표제화합물 다이아스테레오머 A (12.0 g, 20.84 mmol)(혹은 다이아스테레오머 B나 A와 B의 혼합물)에 가하였다. 이 반응액을 24시간동안 환류시킨 후 감압농축하였다. 여기에 메틸렌클로라이드와 물을 가하고 유기층을 추출하여 건조시키고 감압농축하였다. 잔사를 컬럼 크로마토그래피($\text{EtOAc}:\text{Hexane} = 1:4$)로 정제하였다(3.33 g, 23 %).

<196> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.18 (s, 6H, Si-Me), 0.68 (s, 9H, Si-tBu), 1.45 (s, 3H, Me), 2.12 (dd, 1H, $J=11, 11$ Hz), 2.65 (ddd, 1H, $J=4, 10.1, 10.1$ Hz), 2.94 (dd, 1H, $J=5, 11.6$ Hz), 3.70 (dd, 1H, $J=10.6, 10.6$ Hz), 3.74 (m, 1H), 3.43 (s, 1H, OMe), 3.44 (m, 1H), 4.99 (s, 1H), 5.78 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 6.93 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.16 - 7.43 (m, 12H), 7.76 (s, 1H), 8.46 (s, 1H).

<197> (단계 2)

(3S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]
]피페리딘의 제조

<198> 트리부틸틴 하이드라이드(2.22g 7.62 mmol)와

2,2'-아조비스(이소부티로나이트릴)(0.82 g, 4.97 mmol)을 톨루엔(30 mL)에 녹인 상기 (단계 1) 표제화합물 (2.62g 3.82 mmol)에 가하고 2시간 동안 교반하였다. 이를 감압농축한 후 잔사를 컬럼 크로마토그래피(10% - 20% EtOAc/Hexane)로 정제하였다 (2.0 g, 47 %)

<199> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.03 (s, 3H, Si-Me), 0.00 (s, 3H, Si-Me), 0.82 (s, 9H, Si-tBu), 1.55 (s, 3H, Me), 1.81 (dd, 1H, $J=10.5$, 10.5 Hz), 2.18 (m, 1H), 2.33 (ddd, 1H, $J=4$, 10.5, 10.5 Hz), 2.86 (dd, 1H, $J=4$, 10.3 Hz), 3.49 (ddd, 1H, $J=4.4$, 10.5, 10.5 Hz), 3.61 (dd, 1H, $J=10.5$, 10.5 Hz), 3.69 (m, 1H), 3.86 (s, 3H, OMe), 4.50 (dd, 1H, $J=4$, 10.5 Hz), 4.95 (s, 1H), 6.97 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.16 - 7.47 (m, 12H).

<200> (단계 3) (3S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-하이드록시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<201> 이 화합물은 상기 (단계 2)의 화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 7)의 과정과 같은 방법으로 실시하여 목적화합물을 얻었다.

<202> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.52 (s, 3H, Me), 1.76 (dd, 1H, $J=10.5$, 10.5 Hz), 2.32 (m,

2H), 3.00 (dd, 1H, J=3, 10.5 Hz), 3.51 - 3.59 (m, 2H), 3.66 (m, 1H), 3.76 (m, 1H), 3.86 (s, 3H, OMe), 4.47 (dd, 1H, J=4, 10.5 Hz), 4.97 (s, 1H), 6.96 (d, 2H, J=6.8 Hz), 7.17 - 7.40 (m, 12H).

<203> (단계 4) (3S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-메탄설폭시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<204> 상기 화합물은 실시예 1의 (단계 8)의 과정과 같은 방법으로 실시하여 목적화합물을 얻었다.

<205> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.52 (s, 3H, Me), 2.01 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 2.38 (ddd, 1H, J=4, 10.2, 10.2 Hz), 2.53 (m 1H), 2.95 (s, 3H, OMs), 3.14 (dd, 1H, J=4, 11.5 Hz), 3.56 (m, 1H), 3.63 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 3.87 (s, 3H, OMe), 4.46 (dd, 1H, J=4, 10.5 Hz), 4.67 (m, 1H), 4.98 (s, 1H), 6.96 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.19 - 7.42 (m, 12H).

<206> (단계 5) {(3R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<207> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 9)와 같은 과정으로 제조하였다.

<208> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.54 (s, 3H, Me), 2.24 (dd, 1H, J=10.8, 10.8 Hz), 2.55 (m, 2H), 3.20 (m, 1H), 3.72 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 3.86 (m 1H), 3.88 (s, 3H, OMe),

4.53 (dd, 1H, J=4, 10.5 Hz), 4.77 (m, 1H), 5.06 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, J=8.7 Hz),
7.12 - 7.39 (m, 12H), 8.03 (s, 1H), 8.32 (s, 1H).

<209> (단계 6) 6-N-벤조일-[(3R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<210> 이 화합물은 상기 (단계 5)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 10)과 같은 과정으로 제조하였다.

<211> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.55 (s, 3H, Me), 2.27 (dd, 1H, J=11, 11 Hz), 2.55 (m, 2H),
3.21 (m, 1H), 3.74 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 3.78 (m, 1H), 3.88 (s, 3H, OMe),
4.54 (dd, 1H, J=4, 10.5 Hz), 4.77 (m, 1H), 5.07 (s, 1H), 6.99 (d, 2H, J=8.7 Hz),
7.14 - 7.55 (m, 15H), 7.94 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.75 (s, 1H).

<212> (단계 7) 6-N-벤조일-[(3R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-하이드록시메틸피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<213> 이 화합물은 상기 (단계 6)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<214> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.07 (m, 1H), 2.54 (m, 2H), 2.68 (m, 1H), 3.25 (dd, 1H, J=3,
11.3 Hz), 4.17 - 4.24 (m, 3H), 4.85 (m, 1H), 5.43 (s, 1H), 7.18 - 7.33 (m, 10H),
7.52 (t, 2H, J=7 Hz), 7.61 (d, 1H, J=7.3 Hz), 8.05 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.26 (s,
1H), 8.70 (s, 1H).

<215> (단계 8) 6-N-벤조일-[(3R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시 메틸피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<216> 이 화합물은 상기 (단계 7)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<217> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.45 (m, 2H), 2.63 (dd, 1H, $J=7, 12.4$ Hz), 2.85 (m, 1H), 3.14 (dd, 1H, $J=3, 12, 12$ Hz), 3.52 (dd, 1H, $J=6, 10$ Hz), 3.74 (dd, 1H, $J=3, 10$ Hz), 3.823 (s, 3H, OMe), 3.829 (s, 3H, OMe), 4.25 (m, 1H), 4.84 (m, 1H), 4.92 (s, 1H), 6.85 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 6.87 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.15 - 7.35 (m, 12H), 7.44 (d, 2H, $J=7$ Hz), 7.55 (t, 2H, $J=7.3$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 8.05 (d, 2H, $J=7$ Hz), 8.52 (s, 1H), 8.78 (s, 1H).

<218> (단계 9) 6-N-벤조일-[(3R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시 메틸피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<219> 이 화합물은 상기 (단계 8)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<220> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.05 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.10 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.16 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.19 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 2.28 (m, 2H), 2.73 (m, 2H), 2.77 (m, 4H), 2.96 (dd, 2H, $J=2, 12.8$ Hz), 3.10 (dd, 2H, $J=3, 13$ Hz), 3.33 (dd, 2H, $J=8.2, 8.7$ Hz), 3.42 - 3.75 (m, 12H), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.83 (s, 6H, OMe), 3.84 (s, 3H, OMe),

4.37 (m, 1H), 4.57 (s, 1H), 4.60 (s, 1H), 4.91 (m, 2H), 6.85 (d, 4H, J=7.2 Hz),
 6.86 (d, 4H, J=7.2 Hz), 7.07 - 7.42 (m, 34H), 7.55 (d, 4H, J=7.7 Hz), 7.62 (d, 2H,
 J=7.2 Hz), 8.09 (d, 4H, J=7.3 Hz), 8.71 (s, 1H), 8.72 (s, 1H), 9.17 (s, 1H), 9.30
 (s, 1H).

<221> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 148.30, 148.59

<222> <실시예 5> 6-N-벤조일-((3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이
 이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데
 닌의 제조

<223> (단계 1) (3S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-4-옥소-5,6- O-[(4-메
 톡시페닐)에틸리덴]피페리딘 의 제조

<224> -78 $^{\circ}\text{C}$ 에서 무수다이클로로메탄(40 mL)에 다이메틸설펡사이드($253\ \mu\text{L}$, 3.81 mmol)를
 가하고, 옥사릴 클로라이드(1.8 mL, mmol)를 첨가한 후, 실시예 1의 (단계 5)에서 얻어
 진 다이아스테레오머 B(1 g, 1.73 mmol)(혹은 다이아스테레오머 A나 A와 B의 혼합물)를
 5분 동안 첨가하였다. 15분 후 트리에틸아민 ($574\ \mu\text{L}$, 0.87 mmol)을 -78 $^{\circ}\text{C}$ 에서 첨가
 하였다. 5분 후 냉각기를 제거하고 반응물이 실온이 되면, 증류수를 첨가하고 유기용매
 층을 분획한 다음 소듐 설페이트로 수분을 제거한 후 용매를 감압 증발시켰다. 그 잔사
 를 (5~10 %) 메탄올/다이클로로메탄 용매계로 실리카겔 60 컬럼 크로마토그래피로 정제
 하여 700 mg(71 %)을 얻었다.

<225> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.15 (s, 3H, Si-Me), 0.08 (s, 3H, Si-Me), 0.83 (s, 9H, Si-tBu), 1.59 (s, 3H, Me), 2.30 (ddd, 1H, $J=11, 11$ Hz), 2.75 (ddd, 1H, $J=3.6, 10, 10$ Hz), 3.21 (dd, 1H, $J=7, 11.3$ Hz), 3.80 (m, 1H), 3.89 (s, 3H, OMe), 4.16 (dd, 1H, $J=1.5, 9.4$ Hz), 4.26 (dd, 1H, $J=5.2, 10.7$ Hz), 4.46 (dd, 1H, $J=4, 10.6$ Hz), 5.10 (s, 1H), 6.96 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.17 - 7.41 (m, 12H).

<226> (단계 2) (3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-4-하이드록시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<227> 질소하 실온에서 엘-셀렉트라이드(23.2 mL, 23.2 mmol)를 무수 테트라하이드로퓨란(tetrahydrofuran)에 녹인 상기 (단계 1) 표제화합물(3.3 g, 5.8 mmol)에 첨가한 후 17 시간 동안 교반하였다. 반응이 완료되면 증류수를 첨가하고 메틸렌클로라이드를 사용하여 유기용매층을 분획한 다음, 소듐 설페이트로 수분을 제거하고 용매를 감압 증발시켰다. 그 잔사를 (5~10 %)에틸아세테이트/헥산 용매계로 실리카겔 60 컬럼크로마토그래피로 정제하여 2.2 g(66 %)을 얻었다.

<228> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.36 (s, 3H), 0.03 (s, 3H), 0.84 (s, 9H), 1.58 (s, 3H), 2.29 (dd, 1H, $J=10.5, 10.5$ Hz), 2.54 (dd, 1H, $J=4.8, 11$ Hz), 2.89 (ddd, 1H, $J=4.2, 10.5, 10.5$ Hz), 3.55 (dd, 1H, $J=2.5, 9$ Hz), 3.61 (dd, 1H, $J=10.5, 10.5$ Hz), 3.74 (ddd, 1H, $J=2.9, 4.7, 10.4$ Hz), 3.87 (s, 1H), 4.45 (dd, 1H, $J=4.3, 10.4$ Hz), 4.95 (s, 1H), 6.97 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.17~7.39 (m, 12H).

<229> (단계 3) (3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<230> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 6)과 같은 과정으로 제조하였다.

<231> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.03 (s, 3H, Si-Me), 0.03 (s, 3H, Si-Me), 0.85 (s, 9H, Si-tBu), 1.58 (s, 3H, Me), 2.33 (dd, 1H, J=11, 11 Hz), 2.51 (dd, 1H, J=4.4, 11 Hz), 2.78 (ddd, 1H, J=4.2, 10.4, 10.4 Hz), 3.47 (dd, 1H, J=2.3 9.4 Hz), 3.57 (m, 2H), 3.59 (s, 3H, OMe), 3.69 (ddd, 1H, J=2.6, 4.5, 4.5 Hz), 3.87 (s, 3H, OMe), 4.41 (dd, 1H, J=4.2 10.5 Hz), 4.93 (s, 1H), 6.96 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.17 - 7.38 (m, 12H).

<232> (단계 4)

(3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-하이드록시-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<233> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 7)과 같은 과정으로 제조하였다.

<234> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.53 (s, 3H, Me), 2.03 (dd, 1H, J=10.5, 10.5 Hz), 2.74 (ddd, 1H, J=5.4, 11, 11 Hz), 2.78 (m, 1H), 3.55 - 3.68 (m, 4H), 3.64 (s, 3H, OMe), 3.87 (s, 3H, OMe), 4.44 (dd, 1H, J=4.3, 10.4 Hz), 4.93 (s, 1H), 6.95 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.17 - 7.39 (m, 12H).

<235> (단계 5) (3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-메탄설폭시-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<236> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 8)과 같은 과정으로 제조하였다.

<237> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.57 (s, 3H, Me), 2.52 (dd, 1H, $J=10.8$, 10.8 Hz), 2.75 (dd, 1H, $J=5$, 10.7 Hz), 2.84 (ddd, 1H, $J=6$, 9.6, 9.6 Hz), 2.97 (s, 3H, OMs), 3.57 (d, 1H, $J=10.2$ Hz), 3.56 (m, 1H), 3.57 (s, 3H, OMe), 3.88 (s, 3H, OMe), 3.94 (m, 1H), 4.44 (dd, 1H, $J=4.3$, 10.4 Hz), 4.66 (ddd, 1H, $J=2.8$, 4.6, 10.9 Hz), 4.97 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.16 - 7.40 (m, 12H).

<238> (단계 6) {(3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<239> 이 화합물은 상기 (단계 5)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 9)와 같은 과정으로 제조하였다.

<240> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.56 (s, 3H, Me), 2.72 (m, 2H), 3.03 (ddd, 1H, $J=4.2$, 10, 10 Hz), 3.42 (m, 1H), 3.45 (s, 3H, OMe), 3.69 (dd, 1H, $J=10.6$, 10.6 Hz), 3.76 (m, 1H), 3.86 (s, 3H, OMe), 4.52 (dd, 1H, $J=4$, 10.4 Hz), 4.90 (m, 1H), 5.04 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.15 - 7.43 (m, 12H), 7.94 (s, 1H), 8.37 (s, 1H).

<241> (단계 7) 6-N-벤조일-((3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<242> 이 화합물은 상기 (단계 6)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 10)과 같은 과정으로 제조하였다.

<243> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.56 (s, 3H, Me), 2.76 (m, 2H), 3.07 (ddd, 1H, $J=4.2$, 10, 10 Hz), 3.48 (s, 3H, OMe), 3.69 (dd, 1H, $J=10.6$, 10.6 Hz), 3.79 (m, 2H), 3.90 (s, 3H, OMe), 4.52 (m, 1H), 4.98 (m, 1H), 5.05 (s, 1H), 7.00 (d, 2H, $J=8.6$ Hz), 7.18 - 7.56 (m, 15H), 8.04 (d, 2H, $J=8.5$ Hz), 8.17 (s, 1H), 8.81 (s, 1H).

<244> (단계 8) 6-N-벤조일-((3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<245> 이 화합물은 상기 (단계 7)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<246> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.93 (d, 1H, $J=9.6$ Hz), 2.99 (dd, 1H, $J=3.9$, 10.9 Hz), 3.20 (s, 3H, OMe), 3.88 (dd, 1H, 3.4, 3.4 Hz), 4.16 (dd, 1H, $J=10.7$, 10.7 Hz), 4.26 (dd, 1H, $J=3.8$, 12.2 Hz), 5.08 (dd, 1H, $J=4$, 9.5 Hz), 5.48 (s, 1H), 7.18 - 7.40 (m, 10H), 7.53 (t, 2H, $J=7$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J=7.1$ Hz), 8.06 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.03 (s, 1H), 8.80 (s, 1H).

<247> (단계 9) 6-N-벤조일-((3R,4S,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸

옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<248> 이 화합물은 상기 (단계 8)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<249> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.89 (m, 1H), 3.01 (m, 1H), 3.18 (m, 2H), 3.23 (s, 3H, OMe), 3.58 - 3.66 (m 2H), 3.82 (s, 6H, OMe), 4.36 (m 1H), 4.85 (m, 1H), 5.14 (m, 1H), 6.85 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 6.86 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.11 - 7.47 (m, 20H), 7.54 (t, 2H, $J=7.5$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 8.07 (d, 3H, $J=7.9$ Hz), 8.80 (s, 1H).

<250> (단계 10) 6-N-벤조일-[(3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다임에틸트리탈옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<251> 이 화합물은 상기 (단계 9)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<252> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.99 (d, 6H, $J=6.6$ Hz), 1.22 (d, 6H, $J=6.6$ Hz), 1.28 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.29 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 2.57 (m, 2H), 2.77 (dd, 2H, $J=6.4, 6.8$ Hz), 2.84 (m, 1H), 3.00 (m, 1H), 3.36 (s, 3H, OMe), 3.44 - 3.66 (m, 4H), 3.75 (m, 1H), 3.83 (s, 6H, OMe), 3.84 (s, 6H, OMe), 4.13 - 4.17 (m, 2H), 4.45 (m, 1H), 4.55 (d, 1H, $J=10$ Hz), 5.16 (m, 1H), 6.87 (d, 4H, $J=7.4$ Hz), 7.13 - 7.43 (m, 21H), 7.55 (t, 2H, $J=7$ Hz), 7.62 (d, 1H, $J=7$ Hz), 8.10 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.73 (s, 1H), 9.18 (s, 1H).

<253> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 153.08

<254> <실시예 6> 6-N-벤조일-[(3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<255> (단계 1) (3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이에틸실릴옥시-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<256> 이 화합물은 실시예 5의 단계 2에서 얻어진 화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 6)과 같은 과정으로 아이오도에탄(EtI)을 사용하여 제조하였다.

<257> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.05 (s, 3H, Si-Me), 0.01 (s, 3H, Si-Me), 0.83 (s, 9H, Si-tBu), 1.18 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 1.51 (s, 3H, Me), 2.34 (dd, 1H, $J=11.2$, 11.2 Hz), 2.50 (dd, 1H, $J=5$, 10 Hz), 2.84 (ddd, 1H, $J=4$, 10, 10 Hz), 3.46 (dd, 1H, $J=9.3$ Hz), 3.56 (dd, 1H, $J=10.4$, 10.4 Hz), 3.67 (m 2H), 3.81 (q, 2H, $J=7$ Hz), 3.87 (s, 3H, OMe), 4.40 (dd, 1H, $J=4$, 10.4 Hz), 4.91 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.17 - 7.38 (m, 12H).

<258> (단계 2) (3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-하이드록시-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<259> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 7)

과 같은 과정으로 제조하였다.

<260> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.18 (t, 3H, $J=7.2$ Hz, OCH_2CH_3), 1.52 (s, 3H, Me), 2.04 (dd, 1H, $J=11, 11$ Hz), 2.72 (dd, 1H, $J=5, 11$ Hz), 2.80 (m, 1H), 3.53~3.77 (m, 3H), 3.77 (dd, 1H, $J=3, 3$ Hz), 3.87 (s, 3H), 4.10 (m, 2H), 4.43 (dd, 1H, $J=4, 10$ Hz), 4.92 (s, 1H), 6.96 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.17~7.39 (m, 12H)

<261> (단계 3) (3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-메탄설포닐-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<262> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 8)과 같은 과정으로 제조하였다.

<263> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.17 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 1.62 (s, 3H, Me), 2.56 (dd, 1H, $J=11, 11$ Hz), 2.76 (dd, 1H, $J=5, 10$ Hz), 2.91 (m, 1H), 2.95 (s, 3H, OMs), 3.58 (m, 1H), 3.59 (dd, 1H, $J=11, 11$ Hz), 3.74 (dq, 1H, $J=3, 7$ Hz, OCH_2CH_3), 3.87 (s, 3H, OMe), 3.93 (dq, 1H, $J=3, 7$ Hz, OCH_2CH_3), 4.03 (m, 1H), 4.39 (m, 1H), 4.65 (m, 1H), 4.96 (s, 1H), 6.97 (d, 2H, $J=12.7$ Hz), 7.18~7.41 (m, 12H).

<264> (단계 4) {(3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<265> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 9)와 같은 과정으로 제조하였다.

<266> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.02 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 1.53 (s, 3H, Me), 2.73 (m, 1H), 2.77 (d, 1H, $J=12.4$ Hz), 3.06 (ddd, 1H, $J=4, 9, 9$ Hz), 3.33 (dq, 1H, $J=7, 11.8$ Hz, OCH_2CH_3), 3.68 (dd, 1H, $J=11, 11$ Hz), 3.84~3.93 (m, 3H), 3.86 (s, 3H, OMe), 4.49 (dd, 1H, $J=4.2, 10.5$ Hz), 4.89 (ddd, 1H, $J=2.4, 5, 11.3$ Hz), 5.03 (s, 1H), 6.99 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.15~7.43 (m, 12H), 7.96 (s, 1H), 8.38 (s, 1H).

<267> (단계 5) 6-N-벤조일-[(3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-에톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<268> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 10)과 같은 과정으로 제조하였다.

<269> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.04 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 1.55 (s, 3H, Me), 2.77 (m, 2H), 3.04 (m, 1H), 3.39 (dd, 1H, $J=7, 10$ Hz), 3.70 (dd, 1H, $J=10.5, 10.5$ Hz), 3.87 (m, 2H), 3.90 (s, 3H, OMe), 3.96 (dd, 1H, $J=7.2, 9.5$ Hz), 4.50 (dd, 1H, $J=4.2, 10.5$ Hz), 4.99 (m, 1H), 5.05 (s, 1H), 6.99 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.17~7.56 (m, 15H), 8.03 (d, 2H, $J=7$ Hz), 8.19 (s, 1H), 8.82 (s, 1H).

<270> (단계 6) 6-N-벤조일-[(3R,4S,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<271> 이 화합물은 상기 (단계 5)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<272> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.96 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 2.91 - 3.18 (m, 3H), 3.19 (dq, 1H, $J=7$, 7 Hz, OCH_2CH_3), 3.38 (dq, 1H, $J=7$, 9.3 Hz, OCH_2CH_3), 3.98 (m, 1H), 4.14 (d, 1H, $J=11.7$ Hz), 4.16 (m, 1H), 4.25 (dd, 1H, $J=3.7$, 11.9 Hz), 5.08 (m, 1H), 5.48 (s, 1H), 7.8 - 7.63 (m, 13H), 8.06 (d, 2H, $J=7$ Hz), 8.40 (s, 1H), 8.80 (s, 1H).

<273> (단계 7) 6-N-벤조일-[(3R,4S,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<274> 이 화합물은 상기 (단계 6)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<275> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.95 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3), 2.91 (dd, 1H, $J=7$, 11.7 Hz), 3.04 (m, 1H), 3.15 (m, 1H), 3.25 (m, 1H), 3.38 (m, 1H), 3.56 (m, 1H), 3.62 (m, 1H), 3.82 (s, 6H, OMe), 3.95 (dd, 1H, $J=4$, 4 Hz), 4.33 (m, 1H), 4.83 (s, 1H), 5.12 (m, 1H), 6.84 (d, 2H, $J=9$ Hz), 6.87 (d, 2H, $J=9$ Hz), 7.08 - 7.58 (m, 18H), 7.47 (d, 2H, $J=7$ Hz), 7.55 (t, 2H, $J=7$ Hz), 7.62 (d, 1H, $J=7.2$ Hz), 8.06 (d, 2H, $J=7.4$ Hz), 8.81 (s, 1H), 9.06 (s, 1H).

<276> (단계 8) 6-N-벤조일-[(3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<277> 이 화합물은 상기 (단계 7)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<278> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.88 (t, 3H, $J=7$ Hz, OCH_2CH_3) 0.96 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.20 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.22~1.30 (m, 6H, OMe), 1.97 (m, 1H), 2.29 (m, 1H), 2.53 (t, 1H), 2.84 (m, 1H), 2.90 (m, 1H), 3.02 (m, 1H), 3.50~3.59 (m, 7H), 8.84 (s, 6H), 4.08 (m, 1H), 4.38 (m, 1H), 4.51 (m, 1H), 5.13 (m, 1H), 6.87 (d, 4H, $J=7$ Hz), 7.03~7.40 (m, 19H), 7.56 (t, 2H, $J=7.6$ Hz), 7.62 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 8.10 (d, 2H, $J=7$ Hz), 8.81 (s, 1H), 9.14 (s, 1H)

<279> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 153.32

<280> <실시예 7> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<281> (단계 1)

6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<282> 실시예 2의 (단계 10)에서 얻은 화합물(508 mg, 0.76 mmol)에 메틸렌클로라이드(15 mL) 트라이플루오르아세트 산(15 mL)을 가하여 상온에서 4시간 동안 교반하였다. 반응물을 감압하에서 완전히 고체화시킨 후 이를 10 % - 25 % 메탄올/메틸렌클로라이드 용매를 써서 컬럼크로마티그래피로 정제하여 268 mg을 얻었다(수율 95 %).

<283> ^1H NMR (CD_3OD) δ 3.03 (s, 3H), 3.22 (m, 1H), 3.61 (dd, 1H, $J=4.9, 12$ Hz), 3.75 (dd, 1H, $J=9.3, 9.3$ Hz), 3.77 (dd, 1H, $J=12, 12$ Hz), 3.88 (m, 2H), 4.07 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 4.75 (m, 1H), 7.50 (t, 1H, $J=7.3$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J=7$ Hz), 8.48 (s, 1H), 8.68 (s, 1H).

<284> (단계 2) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-메틸-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<285> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물(140 mg, 0.35 mmol)에 메틸아이오다이드(42 μL , 0.7 mmol)와 4-다이메틸아미노피리딘(촉매량), 트라이에틸아민(273 μL , 1.75 mmol)을 가하였다. 반응물을 상온에서 15시간 동안 교반한 후 감압 농축하였다. 잔사를 메틸렌클로라이드에 녹이고 불용성물질을 여과 제거한 후 감압 농축하였다. 잔사를 실리카겔 컬럼 크로마토그래피로 10 % - 25 % 메탄올/메틸렌클로라이드를 사용하여 정제하였다(69 mg, 48 %).

<286> ^1H NMR (CD_3OD) δ 2.13 (m, 1H), 2.47 (s, 3H, N-Me), 3.10 (dd, 1H, $J=5, 11$ Hz), 3.17 (s, 3H, OMe), 3.22 (m, 1H), 3.72 (dd, 1H, $J=9.5, 9.5$ Hz), 3.95 (m, 2H), 3.99 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 4.67 (ddd, 1H, $J=4.5, 11, 11$ Hz), 7.59 (t, 2H, $J=7.1$ Hz), 7.67 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 8.11 (d, 2H, $J=7.2$ Hz), 8.54 (s, 1H), 8.74 (s, 1H).

<287> (단계 3) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<288> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<289> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.22 (s, 3H, N-Me), 2.36 (m, 1H), 2.96 (d, 1H, $J=2.5$ Hz), 3.02 (dd, 1H, $J=4.4, 11.2$ Hz), 3.11 (s, 3H, OMe), 3.22 (dd, 1H, $J=11.4, 11.5$ Hz), 3.45 (dd, 1H, $J=4.1, 10.1$ Hz), 3.55 (dd, 1H, $J=2.3, 8.7$ Hz), 3.80 (s, 3H, OMe), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.97 (dd, 1H, $J=8.6, 10.3$ Hz), 4.56 (ddd, 1H, $J=4.7, 11.3, 11.3$ Hz), 6.88 (d, 4H, $J=8.7$ Hz), 7.17 - 7.65 (m, 12H), 8.00 (s, 1H), 8.05 (d, 2H, $J=7.4$ Hz), 8.84 (s, 1H).

<290> (단계 4) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<291> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<292> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.04 (d, 3H, $J=6.8$ Hz), 1.08 (d, 3H, $J=6.8$ Hz), 2.32 (t, 2H, $J=6.8$ Hz), 2.76 (m, 1H), 2.91 (m, 1H), 3.00 (s, 3H, N-Me), 3.04 (m, 1H), 3.15 (dd, 1H, $J=7.3, 10.1$ Hz), 3.30 - 3.70 (m, 5H), 3.81 (s, 6H, OMe), 3.83 (m, 1H), 4.23 (dd, 1H, $J=3.8, 5.7$ Hz), 4.55 (ddd, 1H, $J=4, 9.2, 9.2$ Hz), 6.84 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.87 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.21 - 7.62 (m, 12H), 8.05 (d, 2H, $J=7.3$ Hz), 8.18 (s, 1H), 8.86 (s, 1H).

<293> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 151.14, 151.84 (major)

<294> <실시예 8> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-프로필-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<295> (단계 1) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-프로필-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<296> 질소 하에서 실시예 7의 (단계 1)의 표제화합물(240 mg, 0.6 mmol)을 무수 아세트나이트릴(10 mL)에 녹인 후, 4-다이메틸아미노피리딘(소량), 트리에틸아민(0.83 mL, 6 mmol)과 n-프로필아이오다이드(300 μ L, 3 mmol)를 첨가하였다. 이 반응물을 4시간 동안 가열 환류시킨 후, 용매를 감압 하에서 증발시켰다. 그 잔사를 7 ~ 25 % 메탄올/다이클로로메탄 용매계를 사용하여 실리카겔 60 컬럼크로마토그래피 (CH_2Cl_2 :MeOH =10:1)로 정제하여 트리에틸아민염과 함께 200 mg (45 %)을 얻었다.

<297> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.90 (t, 3H, $J=7.2$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.52 (m, 2H, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.54 (m, 2H), 2.75 (m, 1H), 3.05 (s, 3H, OMe), 3.17 (m, 1H), 3.33 (dd, 1H, $J=11.4, 11.5$ Hz), 3.83 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 3.90 - 4.10 (m, 3H), 4.50 (ddd, 1H, $J=4.3, 10.6, 10.6$ Hz) 7.54 (t, 2H, $J=7.6$ Hz), 7.62 (d, 1H, $J=6.9$ Hz), 8.05 (d, 2H, $J=7.6$ Hz), 8.06 (s, 1H), 8.82 (s, 1H).

<298> (단계 2)

6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-프로필-5-하이드록시-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시
피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<299> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계
12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<300> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.67 (t, 3H, $J=7.3$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.32 (m, 2H,
 $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.30 (m, 1H), 2.48 (m, 1H), 2.64 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 3.10 (s, 3H,
OMe), 3.23 (dd, 1H, $J=11.3, 11.3$ Hz), 3.45 (dd, 1H, 3.7, 10.1 Hz), 3.53 (dd, 1H,
 $J=3.3, 10.1$ Hz), 3.80 (s, 6H, OMe), 3.82 (m, 1H), 3.93 (dd, 1H, $J=8.6, 10$ Hz),
4.52 (ddd, 1H, $J=4.3, 10.7, 10.7$ Hz) 6.86 (d, 4H, $J=8.7$ Hz), 7.21 - 7.64 (m, 15H),
8.03 (s, 1H), 8.04 (d, 2H, $J=8.5$ Hz), 8.82 (s, 1H).

<301> (단계 3) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-프로필-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로
필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<302> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계
13)와 같은 과정으로 제조하였다.

<303> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.85 (t, 3H, $J=7$ Hz, $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.88 (t, 3H, $J=7$ Hz,
 $\text{N-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 0.94 (d, 6H, $J=6.7$ Hz, $\text{NCH}(\text{CH}_3)_2$), 1.07 (d, 6H, $J=6.7$ Hz,
 $\text{NCH}(\text{CH}_3)_2$), 1.14 (d, 6H, $J=6.8$ Hz, $\text{NCH}(\text{CH}_3)_2$), 1.18 (d, 6H, $J=6.8$ Hz, $\text{NCH}(\text{CH}_3)_2$),
2.33 (t, 4H, $J=6.3$ Hz), 2.40 - 2.57 (m, 4H), 2.75 (t, 2H, $J=6$ Hz), 2.82 (m, 1H),

2.87 (m, 1H), 3.08 (m, 1H), 3.13 (m, 1H), 3.22 (s, 3H, OMe), 3.26 - 3.69 (m, 14H), 3.31 (s, 3H, OMe), 3.81 (s, 6H, OMe), 4.23 (m, 3H), 4.29 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 4.63 (m, 1H), 4.74 (m, 2H), 6.84 (d, 4H, J=8.8 Hz), 6.85 (d, 4H, J=8.8 Hz), 7.21 - 7.64 (m, 24H), 8.05 (d, 2H, J=8.6 Hz), 8.64 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.81 (s, 1H), 8.92 (s, 1H).

<304> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 149.94, 150.64

<305> <실시예 9> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤질-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<306> (단계 1) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤질-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<307> 질소 하에서 실시예 7의 (단계 1)의 표제화합물(300 mg, 0.78 mmol)을 무수 아세트나이트릴(10 mL)에 녹인 후, 여기에 4-다이메틸아미노피리딘(소량), 트리에틸아민(1.08 mL, 7.8 mmol) 및 벤질브로마이드(468 μl , 3.9 mmol)를 첨가하였다. 이 반응물을 4시간 동안 가열환류시킨 다음, 용매를 감압 하에서 증발시켰다. 잔사를 7 ~ 25 % 메탄올/다이클로로메탄 용매계를 사용하여 실리카겔 60 컬럼크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 15:1 \sim 4:1$)로 정제하여 66 mg(18 %)을 얻었다.

<308> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.84 - 2.97 (m 2H), 3.19 (dd, 1H, J=11.2, 11.2 Hz), 3.36 (m,

1H), 3.51 (s, 3H, OMe), 3.73 (d, 1H, J=9 Hz), 3.85 (ddd, 1H, 5, 9.2, 9.2 Hz), 3.99 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 4.09 (m, 2H), 4.32 (dd, 1H, J=6.7, 6.7 Hz) 7.23 - 7.45 (m, 8H), 7.94 (d, 2H, J=7.1 Hz), 8.04 (s, 1H), 8.41 (s, 1H).

<309> (단계 2) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤질-5-하이드록시-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<310> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<311> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.70 (m, 1H), 2.98 (dd, 1H, J=4.6, 11.6 Hz), 3.07 (s, 3H, OMe), 3.15 (m, 2H), 3.61 (m, 2H), 3.803 (s, 3H, OMe), 3.807 (s, 3H, OMe), 3.89 - 4.02 (m, 3H), 4.44 (ddd, 1H, J=4, 10, 10 Hz), 6.84 (d, 2H, J=8.9 Hz), 6.85 (d, 2H, J=8.9 Hz), 7.18 - 7.56 (m, 16H), 7.61 (d, 2H, J=7.2 Hz), 7.96 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.81 (s, 1H).

<312> (단계 3) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤질-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<313> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)와 같은 과정으로 제조하였다.

<314> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.96 (d, 3H, J=6.7 Hz), 1.08 (d, 3H, J=6.7 Hz), 1.12 (d, 3H, J=7 Hz), 1.14 (d, 3H, J=7 Hz), 2.37 (t, 1H, J=6.3 Hz), 2.43 (t, 1H, J=6.4 Hz),

2.80 (m, 1H), 3.34 (s, 3H, OMe), 3.10 - 3.79 (m, 10H), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.82 (s, 3H, OMe), 4.32 (m, 1H), 4.58 (m, 1H), 4.73 (m, 1H), 6.84 (d, 4H, J=8.9 Hz), 7.21 - 7.64 (m, 18H), 8.04 (d, 2H, J=7.4 Hz), 8.42 (s, 1H), 8.82 (s, 1H).

<315> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 150.53

<316> <실시예 10> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-시아노벤질)-5-[(2-아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<317> (단계 1)

6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-시아노벤질)-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<318> 실시예 7의 (단계 1)의 표제화합물(450 mg, 1.17 mmol)을 무수 아세트나이트릴(40 mL)에 녹이고, α -브로모-p-톨루나이트라일(1 g, 5.85 mmol), 트라이에틸아민(1.62 mL, 10.7 mmol), 및 다이메틸아미노피리딘(소량)을 가하였다. 반응물을 상온에서 14시간동안 교반시킨 후 감압응축하고 잔사를 실리카겔로 컬럼크로마티그래피하여 (5 - 25 % 메탄올/메틸렌클로라이드) 200 mg의 화합물을 얻었다(32 %).

<319> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.63 (m, 1H), 2.92 (dd, 1H, J=4.2, 11.3 Hz), 3.07 (s, 3H, OMe), 3.23 (m, 1H), 3.43 (d, 1H, J=14.2 Hz), 3.90 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.97 - 4.16 (m,

4H), 4.33 (d, 1H, J=14.3 Hz), 4.44 (ddd, 1H, J=4, 10.6, 10.6 Hz), 7.46 (m, 2H), 7.52 (d, 2H, J=7.7 Hz), 7.59 (d, 3H, J=8.3 Hz), 8.01 (d, 2H, J=9.8 Hz), 8.03 (s, 1H), 8.76 (s, 1H).

<320> (단계 2) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-시아노벤질)-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<321> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<322> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.75 (m, 1H), 2.86 (dd, 1H, J=4.5, 11.2 Hz), 3.07 (s, 3H, OMe), 3.20 (dd, 1H, J=5.4, 11 Hz), 3.30 (dd, 1H, J=5.7, 8 Hz), 3.57 (m, 2H), 3.788 (s, 3H, OMe), 3.794 (s, 3H, OMe), 3.88 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.97 (m, 2H), 4.39 (ddd, 1H, J=4, 10, 10 Hz), 6.80 (d, 2H, J=8.7 Hz), 6.81 (d, 2H, J=8.7 Hz), 7.25 - 7.54 (m, 16H), 7.97 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.80 (s, 1H).

<323> (단계 3) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-시아노벤질)-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일]아데닌의 제조

<324> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<325> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.05 (d, 6H, J=6.7 Hz), 1.09 (d, 6H, J=6.2 Hz), 1.11 (d, 6H,

J=5.6 Hz), 1.15 (d, 6H, J=6.7 Hz), 2.02 - 2.06 (m, 1H), 2.21 - 2.40 (m, 2H), 2.44 (t, 2H, J=6.1 Hz), 2.95 (m, 2H), 3.07 (s, 3H, OMe), 3.31 (s, 3H, OMe), 3.31 - 3.82 (m, 13H), 3.80 (s, 6H, OMe), 3.81 (s, 6H, OMe), 3.88 - 3.99 (m, 4H), 4.13 (m, 2H), 4.50 (m, 2H), 4.73 (m, 2H), 5.38 (m, 2H), 6.82 (d, 4H, J=8.6 Hz), 6.83 (d, 4H, J=8.1 Hz), 7.16 - 7.46 (m, 23H), 7.54 (t, 4H, J=8 Hz), 7.61 (d, 2H, J=8.9 Hz), 8.04 (m, 5H), 8.19 (s, 1H), 8.65 (s, 1H) 8.81 (s, 1H), 8.84 (s, 1H).

<326> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 150.69, 151.45

<327> <실시예 11> 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-(4-플로로벤질)-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일} 아데닌의 제조

<328> (단계 1) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-(4-플로로벤질)-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<329> 이 화합물은 실시예 7의 1 단계의 표제화합물과 4-플루오로벤질브로마이드를 사용하여 실시예 10의 (단계 1)과 같은 방법을 이용하여 제조하였다.

<330> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.53 (m, 1H), 2.94 (dd, 1H, J=4.6 Hz), 3.2 (m, 2H), 3.94 (m, 2H), 4.02 (m, 2H), 4.15 (m, 2H), 4.42 (ddd, 1H, J=4.6, 10.4, 10.4 Hz), 7.46 (t, 2H, J=7.1 Hz), 7.52 (d, 2H, J=9.2 Hz), 7.64 - 7.54 (m, 3H), 7.97 (d, 2H, J=7.4 Hz), 8.01 (s, 1H), 8.72 (s, 1H)

<331> (단계 2) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-(4-플로로벤질)-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<332> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<333> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.69 (m, 1H), 2.93 (dd, 1H, $J=4.5, 11.4$ Hz), 3.06 (s, 3H, OMe), 3.14 (m, 1H), 3.35 - 3.28 (m, 2H), 3.59 (m, 2H), 3.80 (s, 6H, OMe), 3.98 - 3.87 (m, 2H), 4.42 (ddd, 1H, $J=4.6, 11.1, 11.1$ Hz), 6.83 (d, 2H, $J=6.5$ Hz), 6.84 (d, 2H, $J=7.1$ Hz), 7.39-7.17 (m, 14H), 7.51 (t, 1H, $J=7.0$ Hz), 7.61 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.96 (s, 1H), 8.03 (d, 2H, $J=7.2$ Hz), 8.81 (s, 1H).

<334> (단계 3) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-(4-플로로벤질)-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<335> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<336> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.99 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.06 (d, 6H, $J=6.0$ Hz), 1.09 (d, 6H, $J=6.1$ Hz), 1.14 (d, 6H, $J=6.8$ Hz); 2.40 (m, 4H), 2.78 (m, 2H), 2.92 (m, 2H), 3.15 (s, 3H, OMe), 3.35 (s, 3H, OMe), 3.79 - 3.21 (m, 16H), 3.81 (s, 6H), 3.82 (s, 6H, OMe), 4.19 - 4.05 (m, 4H), 4.30 (m, 2H), 4.55 (m, 2H), 4.72 (m, 2H), 6.85 (d,

8H, J=8.8 Hz)), 7.63 - 6.96 (m, 35H), 8.04 (d, 4H, J=8.2 Hz)), 8.34 (s, 1H) 8.74 (s, 1H), 8.80 (s, 1H), 8.83 (s, 1H).

<337> <실시예 12> 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-(4-메톡시벤질)-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일} 아데닌의 제조

<338> (단계 1) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-(4-메톡시벤질)-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<339> 실시예 7의 (단계 1)의 표제화합물(200 mg, 0.5 mmol)을 무수 아세트나이트릴(5 mL)에 녹이고, 4-메톡시벤질크로라이드(339 mg, 2.5 mmol), 트라이에틸아민 (0.69 mL, 5 mmol), 및 다이메틸아미노피리딘(소량)을 가하였다. 반응물을 상온에서 2시간 동안 가열 환류시킨 후, 감압농축하고 잔사를 컬럼 크로마토그래피(10 - 20 % 메탄올/메틸렌클로라이드)하여 104 mg의 화합물을 얻었다(40 %).

<340> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.60 (d, 1H, J=9 Hz), 3.03 (s, 3H, OMe), 3.07 (m, 1H), 3.19 (dd, 1H, J=11.5, 11.5 Hz), 3.35 (d, 1H, J=13.4 Hz), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.88 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 3.99 (dd, 1H, J=9, 9 Hz), 4.12 (m, 3H), 4.42 (ddd, 1H, J=4, 10.5, 10.5 Hz), 6.86 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.20 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.54 (t, 2H, J=7 Hz), 7.62 (d, 1H, J=7 Hz), 7.96 (s, 1H), 8.04 (d, 2H, J=7 Hz), 8.81 (s, 1H).

<341> (단계 2) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-메톡시벤질)-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸 옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<342> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<343> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.67 (m, 1H), 2.79 (m, 1H), 2.99 (dd, 1H, $J=3, 9$ Hz), 3.04 (m, 1H), 3.07 (s, 3H, OMe), 3.12 (m, 1H), 3.61 (m, 2H), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.81 (s, 6H, OMe), 3.89 (d, 1H, $J=9$ Hz), 3.94 (m, 1H), 4.43 (ddd, 1H, $J=4.7, 10, 10$), 6.78 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 6.86 (d, 2H, $J=8.6$ Hz), 6.87 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.08 (d, 2H, $J=8.5$ Hz), 7.22~7.62 (m, 22H), 7.95 (s, 1H), 8.04 (d, 2H, $J=7.4$ Hz), 8.81 (s, 1H).

<344> (단계 3) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-메톡시벤질)-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<345> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<346> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.96 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.08 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.13 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.15 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 2.36 (t, 2H, $J=6$ Hz), 2.44 (t, 2H, $J=6$ Hz), 2.87 (dd, 2H, $J=4, 13$ Hz), 3.10 (m, 4H), 3.19 (s, 3H, OMe), 3.34 (s, 3H, OMe), 3.77~3.36 (m, 12H), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.81 (s, 3H, OMe), 3.82 (s, 6H, OMe), 4.33

(m, 1H), 4.58 (m, 1H), 4.72 (m, 1H), 6.85 (d, 4H, J=8.6 Hz), 6.88 (d, 4H, J=8.8 Hz), 7.50 - 7.11 (m, 13H), 7.53 (t, 2H, J=7.8 Hz), 7.61 (d, 1H, J=7.1 Hz), 8.05 (d, 2H, J=7.5 Hz), 8.45 (s, 2H), 8.77 (s, 2H).

<347> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 150.41, 150.60

<348> <실시예 13> 4-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일]시토신의 제조

<349> (단계 1) 4-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리텐]피페리딘-3-일]시토신의 제조

<350> N³-벤조일시토신(600 mg, 1.26 mmol)과 트리페닐포스핀(1.5 g, 5.76 mmol) 혼합액을 무수 다이옥산(30 mL)에 녹인 실시예 1의 (단계 7)의 표제화합물(600 mg, 1.26 mmol)에 첨가한 후, 무수 테트라하이드로퓨란(12 mL)에 녹인 다이에틸 아조다이카르복실레이트(1 mL, 1 mmol)를 처리하였다. 이 반응액을 실온에서 하루 밤 교반시켰다. 이 반응액에 에틸아세테이트를 첨가하고 증류수(50 mL)로 2번 씻은 후 유기 용매층을 분획하여 소듐 설페이트로 수분을 제거한 후 용매를 감압 증발시켰다. 그 잔사를(50 % ~ 75 %) 에틸아세테이트/헥산 용매계로 실리카겔 60 컬럼크로마토그래피 (30% - 50% EtOAc/Hexane)로 정제하여 200 mg (24 %) 을 얻었다. ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.55 (s, 3H, Me), 2.64 (m, 1H), 3.00 (dd, 1H, J=4.0, 11.2 Hz), 3.59 (s, 3H, OMe), 3.70 (m, 2H), 3.82 (m, 2H),

3.88 (s, 3H, OMe), 4.23 (m, 1H), 4.46 (dd, 1H, J=3.8, 10.5 Hz), 5.01 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.69 - 7.12 (m, 17H), 7.92 (d, 2H, J=7.6 Hz)

<351> (단계 2)

4-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-메톡시벤질)-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일]시토신의 제조

<352> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<353> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.03 (m, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.72 (m, 1H), 3.22 (dd, 1H, J=4.2, 12.0 Hz), 3.44 (s, 3H, OMe), 3.63 (m, 1H), 4.07 (m, 2H), 4.23 (dd, 1H, J=3.7, 12.3 Hz), 5.46 (s, 1H), 7.93 - 7.24 (m, 19H).

<354> (단계 3) 4-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-메톡시벤질)-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일]시토신의 제조

<355> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<356> ^1H NMR (CDCl_3) δ 2.52 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 3.09 (dd, 1H, J=3.8, 11.5 Hz), 3.41 (s, 3H, OMe), 3.62 (m, 1H), 3.77 (m, 2H), 3.79 (s, 3H, OMe), 3.80 (s, 3H, OMe), 4.17 (m, 2H), 5.04 (s, 1H), 6.80 (d, 2H, J=8.7 Hz), 6.81 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.72 - 7.13 (m, 24H), 7.90 (d, 2H, J=7.4 Hz).

<357> (단계 4) 4-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-(4-메톡시벤질)-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}시토신의 제조

<358> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<359> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.17 (d, 3H, $J=6.8$ Hz), 1.21 (d, 3H, $J=6.7$ Hz), 2.64 - 2.42 (m, 4H), 2.91 (dd, 1H, $J=4.8, 13.3$ Hz), 3.09 (m, 1H, OMe), 3.35 (s, 3H OMe), 3.64 - 3.48 (m, 5H), 3.829 (s, 3H OMe), 3.832 (s, 3H OMe), 4.19 (m, 1H), 4.48 (d, 1H, $J=12.8$ Hz), 4.64 (s, 1H), 4.68 (m, 1H), 5.04 (s, 1H), 6.82 (m, 4H), 7.71 - 7.14 (m, 2H), 7.91 (d, 2H, $J=8.3$ Hz).

<360> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 149.72, 150.59

<361> <실시예 14> 2-N-이소부티릴-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일} 구아닌의 제조

<362> (단계 1) 2-N-이소부티릴-6-O-[2-(p-나이트로페닐)에틸]-[(3R,4R, 5R,6R)- N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}구아닌의 제조

<363> 실시예 1의 (단계 7)의 표제화합물(1.5 g, 3.15 mmol)을 무수 자일렌(70 mL)에 녹

이고 N²-이소부틸릴-0⁶-[2-(p-나이트로페닐)에틸]구아닌(2.3 g, 6.2 mmol), 트라이페닐 포스핀(1.74 g, 6.6 mmol)을 가한 후 상온에서 한시간 동안 교반하였다. 무수 자일렌(10 mL)에 녹인 다이에틸디카르복실레이트(DEAD, 1.04 mL, 6.6 mmol)를 이 반응액에 20분간 천천히 가하고 120 °C에서 6시간동안 교반시켰다. 반응액을 상온으로 천천히 식힌 후, 여과하고 용액을 감압농축하였다. 잔사를 실리카겔을 사용하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(1:1 에틸아세테이트/헥산, 560 mg, 22 %).

<364> ¹H NMR (CDCl₃) δ 1.28 (d, 3H, J=4.9 Hz), 1.29 (d, 3H, J=5.3 Hz), 1.30 (d, 3H, J=4.6 Hz), 1.31 (d, 3H, J=5.3 Hz), 1.55 (s, 3H, Me), 1.81 (s, 3H, Me), 2.58 (m, 2H), 2.72 (dd, 2H, J=11.2, 11.3 Hz), 3.00 (dd, 1H, J=4.5, 11.2 Hz), 3.08 (m, 1H), 3.34 (t, 2H, J=6.9 Hz), 3.35 (s, 3H, OMe), 3.38 (s, 3H, OMe), 3.70 (d, 2H, J=9.5 Hz), 3.80 (d, 2H, J=9 Hz), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.88 (s, 3H, OMe), 4.06 - 4.39 (m, 6H), 4.53 (m, 2H), 4.80 (m, 2H), 5.02 (s, 1H), 5.14 (s, 1H), 6.90 (d, 2H, J=8.9 Hz), 6.99 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.72 - 7.15 (m, 30H), 8.18 (d, 4H, J=8.7 Hz).

<365> (단계 2) 2-N-이소부틸릴-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일)구아닌의 제조

<366> 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 무수 피리딘(12 mL)에 녹이고 1,8-다이아자바 이사이클로[5.4.0]운데크-7-엔(DBU, 203 mL, 1.35 mmol)을 가하였다. 이를 상온에서 10시간 동안 교반시키고 감압농축하였다. 잔사를 실리카겔을 사용하여 컬럼크로마토그래피로 정제하였다(5 - 10 % 메탄올/메틸렌클로라이드, 375 mg, 83 %).

<367> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.310 (d, 3H, $J=4.1$ Hz), 1.32 (d, 3H, $J=4$ Hz), 1.33 (d, 3H, $J=4.7$ Hz), 1.34 (d, 3H, $J=4.1$ Hz), 1.56 (s, 3H, Me), 1.80 (s, 3H, Me), 2.51 (dd, 1H, $J=11.2, 11.3$ Hz), 2.62 (m, 3H), 3.02 (dd, 1H, $J=4.5, 11.2$ Hz), 3.08 (m, 1H), 3.40 (s, 3H, OMe), 3.45 (s, 3H, OMe), 3.69 (d, 2H, $J=9.5$ Hz), 3.77 (d, 2H, $J=9$ Hz), 3.82 (s, 3H, OMe), 3.88 (s, 3H, OMe), 4.27 - 4.05 (m, 6H), 4.58 - 4.45 (m, 2H), 5.02 (s, 1H), 5.13 (s, 1H), 6.90 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 6.99 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.72 - 7.15 (m, 26H).

<368> (단계 3) 2-N-이소부틸릴-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일)구아닌의 제조

<369> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<370> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.25 (d, 3H, $J=7$ Hz), 1.28 (d, 3H, $J=7$ Hz), 2.59 (d, 1H, $J=8.5$ Hz), 2.71 (dd, 1H, $J=10.5, 10.5$ Hz), 2.87 (dq, 1H, $J=7.7$ Hz), 3.07 (m, 1H), 3.16 (s, 3H, OMe), 3.65 (dd, 1H, $J=9, 9$ Hz), 4.06 (dd, 1H, $J=8.6, 8.6$ Hz), 4.21 (m, 2H), 4.41 (m, 1H), 5.56 (s, 1H), 7.30 - 7.12 (m, 10H), 7.86 (s, 1H).

<371> (단계 4) 2-N-이소부틸릴-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일)구아닌의 제조

<372> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계

12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<373> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.26 (d, 3H, $J=7.2$ Hz), 1.30 (d, 3H, $J=6.8$ Hz), 2.56 (d, 1H, $J=8.7$ Hz), 2.66 (m, 2H), 3.08 (dd, 1H, $J=4.2, 11.4$ Hz), 3.15 (s, 3H, OMe), 3.29 (dq, 1H, $J=1.5, 5.7$ Hz), 3.57 (dd, 1H, $J=8.9, 8.9$ Hz), 3.67 (m, 1H), 3.77 (s, 3H, OMe), 3.78 (s, 3H, OMe), 3.81 (m, 1H), 4.39 (ddd, 1H, $J=4, 11.6, 11.6$ Hz), 5.06 (s, 1H), 6.80 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 6.81 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.48 - 7.22 (m, 15H), 7.65 (s, 1H).

<374> (단계 5) 2-N-이소부틸릴-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}구아닌의 제조

<375> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)와 같은 과정으로 제조하였다.

<376> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.15 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.16 (d, 6H, $J=7.3$ Hz), 1.19 (d, 6H, $J=6.5$ Hz), 1.21 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.26 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.27 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 2.38 (t, 4H, $J=7$ Hz), 2.94 - 2.42 (m, 10H), 3.18 (s, 3H, OMe), 3.24 (s, 3H, OMe), 3.30 (dd, 1H, $J=5.7, 7$ Hz), 3.40 (m, 1H), 3.80 - 3.53 (m, 10H), 3.812 (s, 3H, OMe), 3.818 (s, 3H, OMe), 4.17 (m, 1H), 4.53 - 4.37 (m, 3H), 4.67 (s, 1H), 4.72 (s, 1H), 6.81 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.83 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.13 - 7.35 (m), 8.32 (s, 1H), 8.63 (s, 1H).

<377> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 149.32, 150.08

<378> <실시예 15> {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<379> (단계 1) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}티민의 제조

<380> 실시예 1의 (단계 7)의 표제화합물(2.2 g, 4.63 mmol)을 무수 다이옥산(100 mL)에 녹이고 N³-벤조일티민(2.7 g, 20.73 mmol) 및 트라이페닐포스핀(3.3 g, 12.58 mmol)을 가하여 교반한 후, 무수 테트라하이드로퓨란(15 mL)에 녹인 다이에틸 아조다이카르복실레이트(DEAD, 2.1 mL, 11.87 mmol)를 이 용액에 가하여 상온에서 12시간 동안 교반시켰다. 반응액을 감압 농축하고 잔사를 메탄올(90 mL)에 녹인 다음, 암모니아 가스로 30분간 포화시켰다. 톨루엔을 가하면서 이를 감압농축하고, 잔사를 실리카겔을 사용하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(30 - 50 % 에틸아세테이트/헥산, 2.45 g, 91 %).

<381> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.79 (s, 3H, Me), 1.89 (s, 3H, Me), 2.54 (ddd, 1H, J=4, 10, 10 Hz), 3.01 (dd, 1H, J=4.3, 11.1 Hz), 3.56 (s, 3H, OMe), 3.45 (s, 3H, OMe), 3.62 (m, 1H), 3.82 (s, 3H, OMe), 4.12 (dd, 1H, J=7.1, 7.2 Hz), 4.15 (m, 3H), 4.52 (dd, 1H, J=4.2, 10.7 Hz), 5.09 (s, 1H), 6.86 (s; 1H, vinyl H), 6.89 (d, 2H, J=8.9 Hz), 7.12 - 7.47 (m, 12H).

<382> (단계 2) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<383> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<384> ^1H NMR (CDCl_3) δ 3.35 (s, 3H, OMe), 1.89 (s, 3H, Me), 2.53 (dd, 1H, $J=8.3, 12.5$ Hz), 3.08 (dd, 1H, $J=4, 11.4$ Hz), 3.33 (m, 1H), 3.35 (s, 3H, OMe), 3.54 (s, 3H, OMe), 3.77 (dd, 1H, $J=8.4, 8.4$ Hz), 3.97 (dd, 1H, $J=8.2, 8.3$ Hz), 4.10 (d, 1H, $J=10.5$ Hz), 4.22 (m, 2H), 5.46 (s, 1H), 7.05 (s, 1H, vinyl H), 7.20 - 7.41 (m, 10H).

<385> (단계 3) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<386> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<387> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.91 (s, 3H, Me), 2.47 (d, 1H, $J=9$ Hz), 2.48 (m, 1H), 3.03 (dd, 1H, $J=4, 10.5$ Hz), 3.44 (s, 3H, OMe), 3.53 - 3.79 (m, 5H), 3.791 (s, 3H, OMe), 3.797 (s, 3H, OMe), 5.05 (s, 1H), 6.80 (d, 4H, $J=8.8$ Hz), 6.81 (d, 4H, $J=8.8$ Hz), 6.83 (s, 1H, vinyl H), 7.22 - 7.37 (m, 15H), 7.47 (d, 2H, $J=6.8$ Hz).

<388> (단계 4) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미

노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<389> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)와 같은 과정으로 제조하였다.

<390> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.27 (d, 6H, $J=6.7$ Hz), 1.29 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.91 (s, 3H, Me), 2.49 (d, 1H, $J=8.5$ Hz), 2.57 (d, 1H, $J=3.1$ Hz), 2.77 (t, 2H, $J=6.2$ Hz), 3.03 (dd, 1H, $J=4.2, 11.4$ Hz), 3.44 (s, 3H, OMe), 3.46 - 3.73 (m, 6H), 3.76 (m, 1H), 3.790 (s, 3H, OMe), 3.796 (s, 3H, OMe), 4.13 (m, 2H), 5.05 (s, 1H), 6.80 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.81 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.00 (s, 1H, vinyl H), 7.20 - 7.37 (m, 15H), 7.46 (d, 2H, $J=7$ Hz).

<391> <실시예 16> 3-N-메틸-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<392> (단계 1) 3-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-메톡시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}티민의 제조

<393> 실시예 1의 (단계 7)의 표제화합물(1.4 g, 2.94 mmol)을 무수 다이옥산(65 mL)에 녹이고 N³-벤조일티민(1.7 g, 13.1 mmol)과 트라이페닐포스핀(2.1 g, 8 mmol)을 가하여 교반한 후, 무수 테트라하이드로퓨란(10 mL)에 녹인 다이에틸 아조다이크아르복실레이트(DEAD,

1.34 mL, 1.8 mmol)를 이 용액에 가하고, 상온에서 12 시간동안 교반시켰다. 반응액을 감압 농축하고, 잔사를 실리카겔을 사용하여 컬럼 크로마토그래피로 정제하였다(30 % 에틸아세테이트/헥산, 1.9 g, 94 %).

<394> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.78 (s, 3H, Me), 1.94 (s, 3H, Me), 2.54 (m, 1H), 3.04 (dd, 1H, $J=3.3, 10$ Hz), 3.62 (s, 3H, OMe), 3.68 (m, 1H), 3.82 (s, 3H, OMe), 4.01 (dd, 1H, $J=10, 10$ Hz), 4.13 - 4.32 (m, 3H), 4.51 (dd, 1H, $J=7, 10.5$ Hz), 5.08 (s, 1H), 6.89 (s, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.96 (s, 1H, vinyl H), 7.13 - 7.51 (m, 12H), 7.64 (d, 1H, $J=7.4$ Hz), 7.91 (d, 2H, $J=7.2$ Hz).

<395> (단계 2)

3-N-벤조일-{(3R,4R,5R,6R)-6-하이드록시메틸-5-하이드록시-4-메톡시피페리딘-3-일}티민
의 제조

<396> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 7의 (단계 1)과 같은 과정으로 제조하였다.

<397> ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.99 (s, 3H, Me), 3.19 (ddd, 1H, $J=4.2, 4, 10.3$ Hz), 3.32 (m, 2H), 3.58 (m, 1H), 3.60 (s, 3H, OMe), 3.74 (dd, 1H, $J=10.4, 10.4$ Hz), 3.89 (m, 1H), 3.91 (m, 2H), 7.50 (t, 1H, $J=7.6$ Hz), 7.74 (s, 1H), 7.75 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.96 (d, 2H, $J=7.2$ Hz).

<398> (단계 3) 3-N-벤조일-{(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-메톡시

피페리딘-3-일}티민의 제조

<399> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 7의 (단계 2)와 같은 과정으로 제조하였다.

<400> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.98 (s, 3H, Me), 2.02 (m, 1H), 2.36 (s, 3H, NMe), 2.80 (m, 1H), 2.99 (dd, 1H, $J=4, 4, 10.8$ Hz), 3.51 (s, 3H, OMe), 3.85 - 3.72 (m, 4H), 3.96 (d, 1H, $J=11$ Hz), 7.13 (s, 1H, vinyl H), 7.50 (t, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.65 (d, 1H, $J=7.4$ Hz), 7.92 (d, 2H, $J=7.2$ Hz).

<401> (단계 4) {(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<402> 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물(50 mg, 0.12 mmol)을 메탄올(5 mL)에 녹이고 0 $^{\circ}\text{C}$ 에서 암모니아가스를 10분간 포화시킨 후 상온에서 10분간 교반시켰다. 반응기의 마개를 열고 교반시켜 과포화된 암모니아 가스를 제거한 후, 감압 농축한 다음 잔사를 컬럼 크로마토그래피(실리카겔, 10 - 25 % 메탄올/메틸렌클로라이드) 하여 26 mg의 화합물을 얻었다(73 %).

<403> ^1H NMR (CD_3OD) δ 1.91 (s, 3H, Me), 1.95 (m, 1H), 2.40 (s, 3H, NMe), 2.60 (m, 1H), 2.88 (dd, 1H, $J=4.4, 11$ Hz), 3.44 (m, 1H), 3.46 (s, 3H, OMe), 3.61 (m, 2H), 3.89 (d, 2H, $J=2.5$ Hz), 7.59 (s, 1H, vinyl H).

<404> (단계 5) {(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-하이드록시-6-다임메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페

리딘-3-일}티민의 제조

<405> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<406> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.94 (s, 3H, Me), 2.14 (s, 3H, NMe), 2.17 (m, 1H), 2.65 (m, 1H), 2.86 (dd, 1H, $J=4.2, 11$ Hz), 3.42 (m, 1H), 3.45 (s, 3H, OMe), 3.48 (m, 1H), 3.65 (m, 1H), 3.77 (m, 1H), 3.80 (s, 6H, OMe), 4.23 (dd, 1H, $J=3.8, 5.8$ Hz), 6.49 (d, 2H, $J=5.1$ Hz), 6.50 (d, 2H, $J=5$ Hz), 7.01 (s, 1H, vinyl H), 7.48 - 7.22 (m, 9H).

<407> (단계 6) {(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<408> 이 화합물은 상기 (단계 5)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)와 같은 과정으로 제조하였다.

<409> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.11 (d, 6H, $J=6.5$ Hz), 1.12 (d, 12H, $J=6.7$ Hz), 1.16 (d, 6H, $J=6.8$ Hz), 1.93 (s, 6H, Me), 2.30 (s, 3H, NMe), 2.34 (s, 3H, NMe), 2.55 (t, 4H, $J=6$ Hz), 2.79 - 2.63 (m, 3H), 2.86 (m, 3H), 3.11 (dd, 1H, $J=7, 10$ Hz), 3.23 (dd, 1H, $J=5.6, 10$ Hz), 3.33 (s, 3H, OMe), 3.34 (s, 3H, OMe), 3.74 - 3.38 (m, 15H), 3.81 (s, 12H, OMe), 4.15 (m, 2H), 4.20 (m, 2H), 4.38 (m, 1H), 6.86 - 6.82 (m, 8H), 7.47 - 7.28 (m, 20H).

<410> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 151.73, 151.90

<411> <실시예 17> {(3R,4R,5R,6R)-N-플루오레닐-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<412> (단계 1) {(3R,4R,5R,6R)-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<413> 실시예 15의 단계 1의 표제화합물을 사용하여 실시예 7의 (단계 1)과 같은 방법을 사용하여 제조하였다.

<414> ^1H NMR (DMSO) δ 1.80 (s, 3H, Me), 3.16 (m, 1H), 3.28 (m, 2H) 3.33 (s, 3H, OMe), 3.53 - 3.66 (m, 4H), 3.78 (m, 1H), 5.47 (s, 1H), 7.74 (s, 1H, vinyl H).

<415> (단계 2) {(3R,4R,5R,6R)-N-플루오레닐-5-하이드록시-6-다이에틸트리틸옥시메틸하이드록시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<416> 상기 단계 1의 표제화합물(800 mg, 2.8 mmol)을 다이옥산(18 mL)에 녹이고, 여기에 9-플루오레닐메톡시카르보닐 클로라이드(9-fluorenylmethoxycarbonyl chloride, 1.04 g, 2.32 mmol)와 10 % 소듐카보네이트 수용액(35 mL)을 0 °C에서 가하였다. 반응액을 0 °C에서 1시간 동안 교반한 후 감압 농축하였다. 잔사를 실리카겔로 컬럼 크로마토그래피 (50 % 에틸아세테이트/헥산 - 100 % 에틸아세테이트)로 정제하여 600 mg을 얻었다(42 %).

<417> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.92 (s, 3H, Me), 3.37 (m, 1H), 3.46 (s, 3H, OMe), 3.50 (m,

5H), 3.89 (m, 2H), 4.25 (dd, 1H, J=5.4, 5.4 Hz), 4.55 (dd, 1H, J=5.3, 10.5 Hz), 4.70 (dd, 1H, J=5.5, 10.5 Hz), 6.85 (s, 1H, vinyl H), 7.33 (t, 2H, J=7.3 Hz), 7.42 (t, 2H, J=7.3 Hz), 7.57 (dd, 2H, J=4, 7.3 Hz), 7.77 (d, 2H, J=7.5 Hz).

<418> (단계 3) {(3R,4R,5R,6R)-N-플루오레닐-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<419> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<420> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.81 (s, 3H, Me), 3.40 (m, 2H), 3.41 (s, 3H, OMe), 3.58 (m, 1H), 3.761 (s, 3H, OMe), 3.763 (s, 3H, OMe), 3.94 - 4.17 (m, 4H), 4.26 (dd, 1H, J=6.3, 10.5 Hz), 4.63 (m, 2H), 6.89 (d, 4H, J=9 Hz), 7.03 (s, 1H, vinyl H), 7.22 - 7.77 (m, 15H), 8.24 (dd, 2H, J=1.5, 5 Hz).

<421> (단계 4)

{(3R,4R,5R,6R)-N-플루오레닐-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민의 제조

<422> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<423> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.04 (d, 6H, J=6.5 Hz), 1.09 (d, 6H, J=6.7 Hz), 1.15 (d, 12H, J=6.3 Hz), 1.79 (s, 3H, Me), 1.81 (s, 3H, Me), 2.31 (t, 4H, J=6 Hz), 2.64 (m,

2H), 1.93 (dd, 1H, J=5, 15 Hz), 3.26 (s, 3H, OMe), 3.43 (s, 3H, OMe), 3.37 - 3.54 (m, 8H), 3.58 - 3.65 (m, 4H), 3.71 (s, 3H, OMe), 3.73 (s, 3H, OMe), 3.78 (s, 6H, OMe), 4.11 - 4.32 (m, 9H), 4.43 (m, 2H), 4.62 (m, 1H), 4.74 (m, 3H), 6.78 (m, 8H), 7.22 - 7.48 (m, 26H), 7.55 (d, 2H, J=7.9 Hz), 7.64 (d, 2H, J=8.3 Hz), 7.70 - 7.83 (m, 5H).

<424> ^{31}P NMR (CDCl_3) δ : 150.02, 150.84

<425> <실시예 18> 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-이소부티릴옥시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<426> (단계 1) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-3차부틸다이메틸실릴옥시-4-이소부티릴옥시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<427> 실시예 1의 (단계 5)에서 얻어진 다이아스테레오머 B(또는 다이아스테레오머 A 또는 A와 B의 혼합물)를 출발물질 (4 g, 6.947 mmol)로 하여 무수 피리딘 (100 mL)에 녹이고, 여기에 트라이에틸아민 (2.2 mL, 20.74 mmol)과 이소부티릴언하이드라이드 (isobutyric anhydride, 5.8 mL, 26.62 mmol)를 가하였다. 이 용액을 60 °C에서 하루동안 교반한 후 상온으로 식히고 메탄올 (7 mL)을 가하여 30분동안 교반하였다. 용매를 감압하에서 증발시키고 잔사를 에틸아세테이트에 희석하여 소듐바이카보네이트 포화용액으로 씻었다.

유기층을 모아서 소듐설페이트로 건조시킨 후 감압농축하였다. 잔사를 컬럼크로마토그래피(헥산:에틸아세테이트=10:1 용매)로 정제하여 2.45 g의 화합물을 얻었다(수율 55%).

<428> ^1H NMR (CDCl_3) δ -0.14 (s, 3H, Si-Me), -0.04 (s, 3H, Si-Me), 0.76 (s, 9H, Si-tBu), 1.27 (d, 3H, $J=6.9$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.35 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.54 (s, 3H, Me), 2.01 (dd, 1H, $J=10.8, 10.8$ Hz), 2.56 (ddd, 1H, $J=4, 10.4, 10.4$ Hz), 2.68 (m, 1H), 2.87 (dd, 1H, $J=4.9, 11.4$ Hz), 3.56 (d, 1H, $J=8.4$ Hz), 3.61 (d, 1H, $J=6.9$ Hz), 3.67 (dd, 1H, $J=4.8, 10$ Hz), 3.81 (s, 3H, OMe), 4.38 (dd, 1H, $J=4, 10.4$ Hz), 4.90 (dd, 1H, $J=9.4, 9.4$ Hz), 4.94 (s, 1H), 6.95 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.14 - 7.40 (m, 12H).

<429> (단계 2) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-하이드록실-4-이소부티릴옥시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<430> 이 화합물은 상기 (단계 1)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 7)과 같은 과정으로 제조하였다.

<431> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.32 (d, 3H, $J=6.4$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.34 (d, 3H, $J=6.6$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.49 (s, 3H, Me), 1.96 (dd, 1H, $J=10.9, 11$ Hz), 2.55 (m, 1H), 2.77 (m, 1H), 3.08 (dd, 1H, $J=5.1, 11.5$ Hz), 3.52 - 3.80 (m, 3H), 3.87 (s, 3H, OMe), 4.47 (dd, 1H, $J=4.1, 10.4$ Hz), 4.67 (dd, 1H, $J=9.2, 9.2$ Hz), 4.97 (m, 1H), 6.97 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.14 - 7.44 (m, 12H).

<432> (단계 3) (3S,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-3-메탄설포닐-4-이소부티릴옥시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘의 제조

<433> 이 화합물은 상기 (단계 2)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 8)과 같은 과정으로 제조하였다.

<434> ^1H NMR (CDCl_3) δ 1.30 (d, 3H, $J=6.9$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.35 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.48 (s, 3H, Me), 2.17 (dd, 1H, $J=10.8, 10.8$ Hz), 2.57 (ddd, 1H, $J=4, 10.2, 10.2$ Hz), 2.74 (m, 1H), 2.90 (s, 3H, OSO_2CH_3), 3.22 (dd, 1H, $J=5.2, 11.1$ Hz), 3.62 (dd, 1H, $J=10.4, 10.5$ Hz), 3.68 (dd, 1H, $J=9.2, 9.3$ Hz), 3.87 (s, 3H, OMe), 4.45 (dd, 1H, $J=4.2, 10.6$ Hz), 4.68 (ddd, 1H, $J=5.2, 5.3, 10.5$ Hz), 4.98 (s, 1H), 5.06 (dd, 1H, $J=9.4, 9.6$ Hz), 6.96 (d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.15 - 7.42 (m, 12H).

<435> (단계 4) {(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-이소부티릴옥시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<436> 이 화합물은 상기 (단계 3)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 9)와 같은 과정으로 제조하였다.

<437> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.89 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.97 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.50 (s, 3H, Me), 2.40 (m, 1H), 2.57 (dd, 1H, $J=11.4, 11.6$ Hz), 2.77 (m, 1H), 3.11 (dd, 1H, $J=4.4, 11.3$ Hz), 3.72 (dd, 1H, $J=10.4, 10.4$ Hz), 3.89 (s, 3H, OMe), 3.92 (m, 1H), 4.53 (dd, 1H, $J=4, 10.5$ Hz), 4.82 (ddd, 1H, $J=4.3, 11.2, 11.3$ Hz), 5.06 (s, 1H), 5.42 (dd, 1H, $J=9.7, 10.4$ Hz), 6.97 (d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.13 - 7.75

(m, 12H), 7.75 (s, 1H), 8.33 (s, 1H).

<438> (단계 5) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-4-이소부티릴옥시-5,6-O-[(4-메톡시페닐)에틸리덴]피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<439> 이 화합물은 상기 (단계 4)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 10)과 같은 과정으로 제조하였다.

<440> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.89 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.97 (d, 3H, $J=6.9$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 1.51 (s, 3H, Me), 2.40 (m, 1H), 2.62 (dd, 1H, $J=11.3, 11.4$ Hz), 2.80 (m, 1H), 3.15 (dd, 1H, $J=4.4, 11.3$ Hz), 3.74 (dd, 1H, $J=10.4, 10.5$ Hz), 3.89 (s, 3H, OMe), 3.94 (dd, 1H, $J=9.2, 9.2$ Hz), 4.54 (dd, 1H, $J=4, 10.5$ Hz), 4.91 (m, 1H), 5.08 (s, 1H), 5.48 (dd, 1H, $J=10, 10$ Hz), 6.97 (d, 2H, $J=8.8$ Hz), 7.13 - 7.61 (m, 15H), 7.97 (s, 1H), 8.02 (d, 1H, $J=7.3$ Hz), 8.79 (s, 1H).

<441> (단계 6) 6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-하이드록시메틸-4-이소부티릴옥시피페리딘-3-일}아데닌의 제조

<442> 이 화합물은 상기 (단계 5)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 11)과 같은 과정으로 제조하였다.

<443> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.75 (d, 3H, $J=7$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.90 (d, 3H, $J=6.9$ Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.33 (m, 1H), 2.71 - 2.76 (m, 2H), 3.26 (dd, 1H, $J=4.1, 11.6$ Hz), 4.14 - 4.23 (m, 2H), 4.34 (m, 1H), 4.91 (ddd, 1H, $J=3.8, 11, 11$ Hz), 5.37 (dd, 1H,

J=9.2, 10.6 Hz), 5.62 (s, 1H), 7.17 - 7.40 (m, 10H), 7.52 (t, 2H, J=7.2 Hz), 7.60 (d, 1H, J=7.2 Hz), 7.90 (s, 1H), 8.02 (d, 1H, J=7.7 Hz), 8.79 (s, 1H).

<444> (단계 7) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-1N-벤즈하이드릴-5-하이드록시-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-이소부티릴옥시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<445> 이 화합물은 상기 (단계 6)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 12)와 같은 과정으로 제조하였다.

<446> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.74 (d, 3H, J=7.1 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 0.91 (d, 3H, J=6.9 Hz, $\text{CH}(\text{CH}_3)_2$), 2.34 (m, 1H), 2.63 (d, 1H, J=8.9 Hz), 2.75 (dd, 1H, J=11.3, 11.3 Hz), 3.25 (dd, 1H, J=4.2, 11.4 Hz), 3.79 (s, 6H, OMe), 4.23 (ddd, 1H, J=4.1, 10.8, 10.8 Hz), 5.20 (s, 1H), 5.33 (dd, 1H, J=9.5, 10.2 Hz), 6.81 (d, 2H, J=8.9 Hz), 6.83 (d, 2H, J=9 Hz), 7.22 - 7.41 (m, 19H), 7.52 (t, 2H, J=6.9 Hz), 7.59 (d, 1H, J=7.1 Hz), 7.98 (s, 1H), 8.02 (d, 1H, J=7.5 Hz), 8.81 (s, 1H).

<447> (단계 8) 6-N-벤조일-((3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시) (N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-이소부티릴옥시피페리딘-3-일)아데닌의 제조

<448> 이 화합물은 상기 (단계 7)에서 제조된 표제화합물을 이용하여 실시예 1의 (단계 13)과 같은 과정으로 제조하였다.

<449> ^1H NMR (CDCl_3) δ 0.83 (d, 3H, J=7.3 Hz, $\text{COCH}(\text{CH}_3)_2$), 0.92 (d, 3H, J=6.9 Hz,

COCH(CH₃)₂), 1.09 (d, 6H, J=6.7 Hz, NCH(CH₃)₂), 1.17 (d, 6H, J=6.9 Hz, NCH(CH₃)₂), 2.22 (m, 1H), 2.44 (t, 2H, J=6.5 Hz), 2.78 (dd, 1H, J=6.5, 12.5 Hz), 3.06 (dd, 1H, J=4.1, 12.6 Hz), 3.45 - 3.60 (m, 3H), 3.62 - 3.88 (m, 4H), 3.80 (s, 3H, OMe), 3.81 (s, 3H, OMe), 4.48 (m, 1H), 4.77 (s, 1H), 4.82 (m, 1H), 5.40 (t, 1H, J=5.4 Hz), 6.79 (d, 2H, J=8.8 Hz), 6.80 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.11 - 7.56 (m, 22H), 8.05 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.71 (s, 1H), 8.76 (s, 1H).

<450> ³¹P NMR (CDCl₃) δ 150.56, 150.83.

<451> <실시예 19> 올리고머의 합성

<452> 모든 올리고머는 어플라이드 바이오시스템 392(DNA/RNA Synthesizer)를 이용하여 1 마이크로몰 스케일로 트리틸-온(trityl-on) 상태로 합성되었다. 일반적인 축합시간이 1분 인데 반하여, 아자슈거의 4위치에 수소외의 기가 있는 뉴클레오타이드 축합의 경우에는 축합시간이 10분이었다. 고체지지물과 보호기는 암모니아수를 사용하여 55 °C에서 17시간 동안의 가열에 의해 제거 되었고, 이 용액은 디메톡시트리틸(DMT) 보호기의 분리를 막기 위해 1시간마다 트리에틸아민 5방울을 가하면서 동결 건조되었다. 잔사를 1 mL의 산도 7의 100 mM 트리에틸암모늄 아세테이트(triethylammonium acetate, 이 후 TEAA) 용액에 녹이고 이를 역상 고성능 액체크로마토그래피. (Hamilton PRP-1, 300 mm x 7 mm, 18 - 28 % 아세토나이트릴/100 mM TEAA, 산도 7, 260 nm에서 UV로 모니터)로 정제하였다. 원하는 분획을 동결건조하고, 1 mL의 증류수를 두 번 가하여 다시 동결 건

조함으로써, 잔류하는 TEAA 염을 완전히 제거하였다. 남은 고체를 0.3 mL의 80 % 초산을 가하여 볼텍스(vortex)로 완전히 녹인 다음 20분간 상온에서 방치하여 디메톡시트리틸기를 분리하였다. 0.3 mL의 에탄올을 가하여 과량의 초산을 제거하고 이를 동결 건조하였다. 잔사에 1 mL의 증류수를 가하여 볼텍스로 잘 녹이고, 1 mL의 에테르를 가하여 볼텍스로 잘 교반시켰다. 상층의 에테르를 피펫으로 제거하고 다시 1 mL의 에테르를 가한 후, 같은 과정을 두 번 반복하였다. 물층을 동결 건조한 후 잔사에 1 mL의 증류수를 가한 다음, 이 용액을 70 °C에서 UV 흡광도를 측정하여 정량하였다. 농도 계산을 위한 자연 뉴클레오타이드의 흡광 계수는 dAMP, 15200; dCMP, 7700; TMP, 8830; dGMP, 11500; 이다. 아자 슈가를 가진 뉴클레오타이드의 흡광 계수도 자연 뉴클레오타이드와 같은 값으로 계산되었다. 올리고머의 구성은 효소분해 후 고성능 액체 크로마토그래피(HPLC)(Hewlett Packard, ODS hypersil, C-18; 20 mM K₂HPO₄, pH 5.6 (A), MeOH (B), 100 % A to 40% B, 20 min)와 레이저 탈착(Laser Desorption) 질량 분석으로 확인되었다.

<453> <실시예 20> 올리고머의 하이브리다이제이션 : Melting Studies

<454> 온도 변화에 따른 올리고머의 UV 흡광도 변화는 베크만 분광기(Beckmann DU 650 Spectrometer)와 베크만 고성능 온도제어기(Beckmann High Performance Temperature Controller)를 사용하여 측정되었다. 상온 이하의 저온에서 흡광도를 측정할 때는 질소 가스를 약하게 UV 셀에 불어줌으로써 셀 표면의 습기 응축현상을 방지하였다. 온도는 1 분에 1 °C씩 증가시켜 5 °C에서 90 °C까지 측정하였으며, 안티센스 올리고머 및 RNA의 농도는 각 2.5 μM을 사용하고, 완충용액은 100 mM NaCl, 10 mM 소듐 포스페이트(sodium

phosphate), 0.1 mM EDTA, pH 7을 사용하였다. T_m (melting temperature)은 온도곡선에 대한 흡광도의 1차 도함수(first derivative)로 산출되었다. 고온에서 저온으로의 T_m 곡선(Reverse melting temperature, 90 °C에서 5 °C까지, 1분에 1 °C 감소)도 측정하였으며, 이 때의 T_m 값은 포워드(Foward) 실험의 T_m 값과 1 °C 이내의 차이를 보였다.

<455> 아자슈가를 가진 안티센스 올리고머의 상보적 서열을 갖는 RNA에 대한 T_m 값을 DNA-RNA T_m 값과 비교하였다. 높은 T_m 값은 높은 결합력을 나타낸다.

<456>

【표 1】

안티센스 올리고머의 T_m값 측정

	R ¹	R ²	Sequence	T _m (RNA)	ΔT _m
대조군	-	-	5'-dAGG GAG AGA AAG-3' 5'-rCTT TCT CTC CCT-3'	34 °C	-
실시예 1	β-Ome	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	36 °C	+2 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	39 °C	+5 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	40 °C	+6 °C
실시예 2	β-OEt	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	36 °C	+2 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	38 °C	+4 °C
실시예 3	β-OEtOMe	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	37 °C	+1 °C
실시예 4	H	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	34 °C	0 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	34 °C	0 °C
실시예 5	α-Ome	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	36 °C	+2 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	37 °C	3 °C
실시예 6	α-OEt	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	33 °C	-1 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	34 °C	0 °C
실시예 7	β-Ome	Me	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	28 °C	-6 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	20 °C	-14 °C
실시예 8	β-Ome	n-propyl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	31 °C	-3 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	26 °C	-8 °C
실시예 9	β-Ome	benzyl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	33 °C	-1 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	33 °C	-1 °C
실시예 10	β-Ome	4-cyano benzyl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	32 °C	-2 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	31 °C	-3 °C
실시예 11	β-Ome	4-fluoro benzyl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	33 °C	-1 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	33 °C	-1 °C
실시예 12	β-Ome	4-methoxy benzyl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	31 °C	-3 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	31 °C	-3 °C
실시예 14	β-Ome	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	25 °C	-9 °C
			5'-AGG GAG AGA AAG-3'	20 °C	-14 °C
실시예 18	β-OH	benzhydryl	5'-AGG GAG AGA AAG-3'	31 °C	-3 °C

【표 2】

안티센스 올리고머의 Tm값 측정

	R ¹	R ²	Sequence	T _m (RNA)	ΔT _m
대조군	-	-	5'-rAGG GAG AGA AAG-3' 5'-dCTT TCT CTC CCT-3'	54 °C	-
실시예 13	β-OMe	benzhydryl	5'-CTT TCT CTC CCT-3'	34 °C	-20 °C
실시예 15	β-OMe	benzhydryl	5'-CTT TCT CTC CCT-3'	46 °C	-8 °C
실시예 16	β-OMe	Me	5'-CTT TCT CTC CCT-3'	42 °C	-12 °C
실시예 17	β-OMe	H(Fmoc 보호기)	5'-CTT TCT CTC CCT-3'	40 °C	-14 °C

<458> 표 1 및 표 2의 결과를 살펴보면, 모든 올리고머가 자연형의 DNA 나선보다 RNA에 대한 강한 결합을 나타내는데, 특히 그 중에서도 실시예 1, 실시예 2, 실시예 3 및 실시예 5의 모노머를 가지는 올리고머는 T_m 값이 1 - 6 °C까지 상승하는 것으로 보아 상보적 서열을 갖는 RNA에 대해 가장 높은 결합력을 보임을 알 수 있다.

<459> 따라서, 본 발명의 올리고머는 RNA에 대한 결합력이 높은 우수한 안티센스로서 이용될 수 있다.

<460> <실시예 21> 올리고머의 뉴클리아제(Nuclease)에 대한 안정성

<461> 에펜돌프 튜브에 각 올리고머 (실시예 1의 모노머를 이용한 3개의 올리고머: 5'-AGG GAG AGA AAG-3', 5'-AGG GAG AGA AAG-3', 5'-AGG GAG AGA AAG-3') 0.15 OD를 넣고, 0.03 단위의 사독(蛇毒) 디에스테라제(snake venom diesterase)와 0.18 단위의 알칼리성 포스파타제(alkaline phosphatase)를 가한다 (Buffer: 100 mM MgCl₂, 4 μL: 0.25 M Tris HCl, pH 8.1, 8 μL: 증류수 13 μL). 이 반응액을 37 °C에서 인큐베이션하면서 30분 간

격으로 일정액을 취하여 올리고머의 분해정도를 HPLC로 측정한다(Hamilton PRP-1, 300 mm x 7 mm, 260 nm에서 측정). 이 조건하에서는 자연 올리고머는 30분 내에 모두 분해되나 실시예 1의 3개의 올리고머는 모두 4시간까지 완전히 분해되지 않았다. HPLC 상 본 발명의 모노머 피크가 나타나지 않고 일부가 분해된 올리고머 조각이 나타나는 것으로 보아 위 효소는 본 발명의 모노머가 연결된 DNA를 부분을 분해하지 못하는 것으로 보인다.

<462> <실시예 22> 랫트에 대한 비경구투여 급성 독성실험

<463> 6주령의 특정병원부재(SPF) SD계 랫트를 사용하여 급성독성실험을 실시하였다. 군당 2 마리씩의 동물에 실시예 1~19의 화합물을 각각 0.5% 메틸셀룰로즈 용액에 현탁하여 1g/kg/15mL의 용량으로 단회 비경구투여하였다. 시험물질 투여후 동물의 폐사여부, 임상증상, 체중변화를 관찰하고 혈액학적 검사와 혈액생화학검사를 실시하였으며, 부검하여 육안으로 복강장기와 흉강장기의 이상여부를 관찰하였다. 시험결과, 시험물질을 투여한 모든 동물에서 특기할 만한 임상증상이나 폐사된 동물은 없었으며, 체중변화, 혈액검사, 혈액생화학 검사, 부검소견 등에서도 독성변화는 관찰되지 않았다. 이상의 결과 실험된 화합물은 모두 랫트에서 500 mg/kg까지 독성변화를 나타내지 않으며 경구투여 최소치사량 (LD₅₀)은 500 mg/kg이상인 안전한 물질로 판단되었다.

【발명의 효과】

<464> 이상에서 살펴본 바와 같이, 본 발명은 질병의 원인이 되는 독성 단백질 생산을 근원적

으로 차단할 수 있는 안티센스 모노머 및 올리고머에 관한 것으로, 본 발명의 안티센스 모노머 및 안티센스 올리고머는 일반적인 안티센스 약물의 목표인 RNA에 DNA보다 강하게 결합할 뿐만 아니라, 분해효소인 뉴클레아제에 대한 내성을 가지며, 또한 세포막의 투과성도 개선시킬 수 있다.

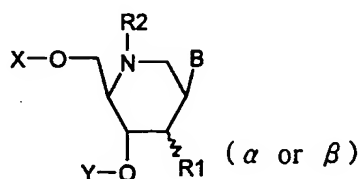
<465> 또한, 본 발명의 모노머 및 올리고머는 질병을 일으키는 유전자의 발현을 차단하여 안티센스 요법과 같은 분야에 유용하며, 안티센스 기술 이외에도 유전자 크로닝의 하이브리다이제이션, 진단시약, 단백질 연구 등에 유용하게 사용될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

자연 뉴클레오타이드의 당인 오환의 리보오스(ribose)를 육환의 아자슈가로 치환한
 하기 화학식 1의 구조를 갖는 뉴클레오타이드 모노머.

화학식 1



상기 화학식 1에서

(1) B 는 보호기를 갖거나 갖지 않은 자연 뉴클레오베이스 또는 변형된 뉴클레오베이스
 이고,

(2) R¹은 수소, α- 또는 β-하이드록시, α- 또는 β-메톡시, α- 또는 β-에톡시 등
 α- 또는 β-저분자 알콕시 (lower alkoxy), α- 또는 β-메톡시에톡시, α- 또는 β-
 플로로 등 α- 또는 β-할로젠, α- 또는 β-아미노메톡시, α- 또는 β-아미노에톡시
 등 α- 또는 β-아미노알콕시, α- 또는 β-다이메틸아미노-옥시에틸톡시 (dimethyl
 amino- oxyethyloxy) 등 α- 또는 β-다이메틸아미노-옥시알콕시, α- 또는 β-O-아실이
 며,

(3) R²는 수소, 벤질, 메틸벤질, 에틸벤질, 디페닐메틸, 할로디페닐메틸 등 아라알킬
 (aralkyl), 니트로벤질, 플루오로벤질 등의 할로아라알킬, 시아노벤질, 메톡시벤질, 에

특시벤질 등 알콕시벤질, 메틸, 에틸, 프로필, 3차부틸 등의 저분자알킬 (lower alkyl), 페닐, 할로페닐 등의 치환기가 있거나 없는 아릴 (aryl), 헤테로아릴 (heteroaryl), 헤테로아릴알킬 (heteroarylalkyl), 나프타릴, 플루오레닐 (Fmoc) 이며,

(4) X는 수소 또는 하이드록실 보호기이며,

(5) Y는 수소, 포스페이트, 활성화된 포스페이트, 활성화된 포스파이트(phosphite) 또는 고체지지물이다.

【청구항 2】

제 1항에 있어서, R¹은 수소, 메톡시, 에톡시, 메톡시에톡시인 것을 특징으로 하는 뉴클레오타이드 모노머.

【청구항 3】

제 1항에 있어서, R²는 디페닐메틸, 메틸, 3차부틸, 벤질, 시아노벤질, 플루오로벤질, 메톡시벤질, 플루오레닐(Fmoc)인 것을 특징으로 하는 뉴클레오타이드 모노머.

【청구항 4】

제 1항에 있어서, 뉴클레오타이드 모노머는

6-N- 벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이에틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 1의 화합물);

6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 2의 화합물);

6-N- 벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시에톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 3의 화합물);

6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸피페리딘-3-일}아데닌(실시예 4의 화합물);

6-N- 벤조일-[(3R,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 5의 화합물);

6-N-벤조일-[(3S,4S,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-에톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 6의 화합물);

6-N- 벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 7의 화합물);

6-N-벤조일-[(3R,4R,5R,6R)-N-프로필-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 8의 화합물);

합물);

6-N- 벤조일-((3R, 4R, 5R, 6R)-N-벤질-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 9의 화합물);

6-N-벤조일-((3R, 4R, 5R, 6R)-N-(4-시아노벤질)-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 10의 화합물);

6-N- 벤조일-((3R, 4R, 5R, 6R)-N-(4-플로로벤질)-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 11의 화합물);

6-N-벤조일-((3R, 4R, 5R, 6R)-N-(4-메톡시벤질)-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 12의 화합물);

4-N- 벤조일-((3R, 4R, 5R, 6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}시토신(실시예 13의 화합물);

2-N-이소부티릴-((3R, 4R, 5R, 6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}구아닌(실시예 14의 화합물);

{(3R, 4R, 5R, 6R)-N- 벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)}

포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민(실시예 15의 화합물);

{(3R,4R,5R,6R)-N-메틸-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민(실시예 16의 화합물);

{(3R,4R,5R,6R)-N-플루오레닐-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-메톡시피페리딘-3-일}티민(실시예 17의 화합물);

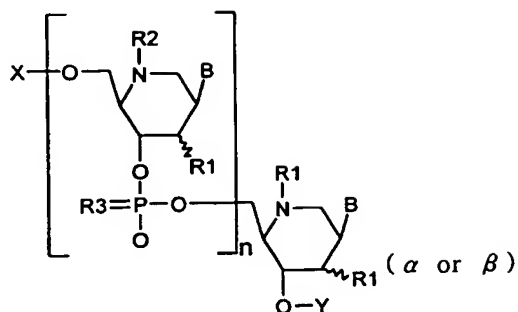
6-N-벤조일-{(3R,4R,5R,6R)-N-벤즈하이드릴-5-[(2-시아노에톡시)(N,N-다이이소프로필아미노)포스핀옥시]-6-다이메틸트리틸옥시메틸-4-이소부티릴옥시피페리딘-3-일}아데닌(실시예 18의 화합물);

중에서 어느 하나인 것을 특징으로 하는 화학식 1의 구조를 갖는 뉴클레오타이드 모노머.

【청구항 5】

제 1항의 뉴클레오타이드 모노머를 올리고뉴클레오타이드의 일부분 또는 전 부분에 도입하여 제조되는 하기 화학식 2의 구조를 갖는 안티센스 올리고머.

화학식 2



상기 화학식 2에서

n 은 1~30이며,

1) B는 보호기를 갖거나 갖지 않은 자연 뉴클레오베이스 또는 변형된 뉴클레오베이스이고,

2) R¹은 수소, α - 또는 β -하이드록시, α - 또는 β -메톡시, α - 또는 β -에톡시 등 α - 또는 β -저분자 알콕시 (lower alkoxy), α - 또는 β -메톡시에톡시, α - 또는 β -플로로 등 α - 또는 β -할로젠, α - 또는 β -아미노메톡시, α - 또는 β -아미노에톡시 등 α - 또는 β -아미노알콕시, α - 또는 β -다이메틸아미노-옥시에틸록시 (dimethyl amino- oxyethyloxy) 등 α - 또는 β -다이메틸아미노-옥시알콕시 또는 α - 또는 β -O-아실이며,

3) R²는 수소, 벤질, 메틸벤질, 에틸벤질, 디페닐메틸 등 아라알킬 (aralkyl), 니트로 벤질, 플루오로벤질 등의 할로아라알킬, 사이아노벤질, 메톡시벤질, 에톡시벤질 등 알콕시벤질, 메틸, 에틸, 프로필, 3차부틸 등의 저분자알킬 (lower alkyl), 페닐, 할로페닐 등의 치환기가 있거나 없는 아릴(aryl), 헤테로아릴(heteroaryl), 헤테로아릴알킬 (heteroarylalkyl), 나프타릴, 할로다이페닐메틸 또는 플루오레닐(Fmoc)이며,

- 4) R^3 는 산소 또는 황이며,
- 5) X는 수소 또는 하이드록실 보호기, 컨쥬게이트기, 또는 올리고뉴클레오타이드이며,
- 6) Y는 수소, 포스페이트, 활성화된 포스페이트, 활성화된 포스파이트, 또는 고체지지물, 컨쥬게이트기, 올리고뉴클레오타이드이다.

【청구항 6】

제 5항에 있어서, R^1 은 수소, 메톡시, 에톡시, 메톡시에톡시인 것을 특징으로 하는 안티센스 올리고머.

【청구항 7】

제 5항에 있어서, R^2 는 디페닐메틸, 메틸, 3차부틸, 벤질, 시아노벤질, 플루오로벤질, 메톡시벤질, 플루오레닐(Fmoc)인 것을 특징으로 하는 안티센스 올리고머.

【청구항 8】

제 1항의 모노머 또는 제 5항의 안티센스 올리고머를 측면에 가지고 있으며, 중앙에 포스포다이에스터(phosphodiester) 또는 포스포로치오에이트(phosphothioate) 올리고뉴클레오타이드를 함유하는 키메릭 올리고머.

【청구항 9】

- (1) 보호기를 가진 글루코즈를 산화시켜 케톤 화합물을 얻는 단계;
 - (2) 상기 (1)의 화합물을 산성의 수지를 사용하여 보호기를 제거하는 단계;
 - (3) 상기 (2)의 화합물을 고리화 시켜 육환의 아자슈가를 얻는 단계;
 - (4) 상기 (3)의 화합물의 C-6위치의 1차 알콜기와 C-5위치의 2차 알콜기를 보호하는 단계 ;
 - (5) 상기 (4)의 화합물의 C-3위치의 2차 알콜만을 선택적으로 보호한 다음, C-4위치의 알콜을 알킬레이션하는 단계;
 - (6) 상기 (5)의 화합물을 C-3위치의 보호기를 제거하고, 이를 미즐레이션하는 단계;
 - (7) 상기 (6)의 화합물을 염기와 축합반응하여 뉴클레오사이드를 제조하는 단계;
 - (8) 상기 (7)의 뉴클레오사이드에 포스페이트기를 연결하는 단계;
- 로 이루어지는 제 1항의 뉴클레오타이드 모노머의 제조방법

【청구항 10】

- (1) 뉴클레오타이드 모노머의 당에 연결된 한 개의 1차 알콜기는 다이메톡시트리틸기로 치환하고, 한 개의 2차 알콜기는 포스포아미다이트기로 치환하며, 티민을 제외한 핵염기를 적절한 보호기로 보호하는 단계;
- (2) 상기 (1)의 모노머에 고체지지물을 부착하여 올리고뉴클레오타이드와 축합반응시키는 단계;

(3) 상기 (단계 2)의 올리고머로부터 고체 지지물 및 보호기를 제거하는 단계;

(5) 올리고머의 5'-하이드록실기의 보호기를 제거하는 단계;

로 이루어지는 제 5항의 안티센스 올리고머의 제조방법.

【청구항 11】

제 10항에 있어서, (단계 2)의 축합반응은 고체지지물이 부착된 뉴클레오타이드 모노머를 3'-위치에 도입하는 것을 특징으로 하는 안티센스 올리고머의 제조방법.

【청구항 12】

제 10항에 있어서, (단계 2)의 축합반응은 고체지지물이 부착된 뉴클레오타이드 모노머를 DNA 합성기를 사용한 표준 포스포아미다이트 제법을 이용하여 3'-말단 외의 위치에 도입하는 것을 특징으로 하는 안티센스 올리고머의 제조방법.

【청구항 13】

제 5항의 안티센스 올리고머 또는 제 8항의 키메릭 올리고머를 유효성분으로 하는 단백질 생산 억제제 또는 차단제용 약학적 조성물.

【청구항 14】

제 5항의 안티센스 올리고머 또는 제 8항의 키메릭 올리고머를 유효성분으로 하는
바이러스나 박테리아로 인한 감염질환, 암, 또는 면역질환 치료제용 약학적 조성물.
【청구항 14】

【서열목록】

<110> DONGBU HANNONG CHEMICAL CO.,LTD. <120> Nucleotide monomer
containing six-membered azasugar and antisense <130> 9P-05-03 <160>
3 <170> KOPATIN 1.5 <210> 1 <211> 12 <212> DNA
<213> Artificial Sequence <220> <223> control oligonucleotid
<400> 1 agggagagaa ag
12 <210> 2 <211> 12 <212> DNA <213> Artificial
Sequence <220> <223> antisense oligomer 1 <220> <221>
misc_feature <222> (5)..(5) <223> azasugar nucleotide monomer 1
<400> 2 agggagagaa ag
12 <210> 3 <211> 12 <212> DNA <213> Artificial
Sequence <220> <223> antisense oligomer 2 <220> <221>
misc_feature <222> (5)..(5) <223> azasugar nucleotide monomer 1
<220> <221> misc_feature <222> (10)..(10) <223>
azasugar nucleotide monomer 1 <400> 3 agggagagaa ag